



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI PENETRASI KRIM LIPOSOM YANG MENGANDUNG
FRAKSI DIKLOROMETANA DARI EKSTRAK METANOL -
KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN**

TESIS

**DESY MULIANA WENAS
1006787174**

**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI MAGISTER HERBAL
DEPOK
JULI 2013**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI PENETRASI KRIM LIPOSOM YANG MENGANDUNG
FRAKSI DIKLOROMETANA DARI EKSTRAK KULIT BUAH
MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains

**DESY MULIANA WENAS
1006787174**

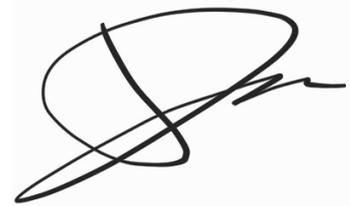
**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI MAGISTER HERBAL
DEPOK
JULI 2013**

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa tesis ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 16 Juli 2013

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke at the end, set against a light gray rectangular background.

Desy Muliana Wenas

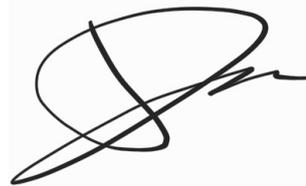
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Desy Muliana Wenas

NPM : 1006787174

Tanda Tangan :

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized loop followed by a horizontal line and a small flourish.

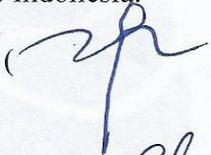
Tanggal : 16 Juli 2013

HALAMAN PERSETUJUAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Desy Muliana Wenas
NPM : 1006787174
Program Studi : Magister Herbal
Judul Proposal : Uji Penetrasi Krim Liposom Yang Mengandung Fraksi Diklorometana dari Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Antioksidan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada program studi Magister Herbal, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.

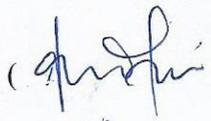
Pembimbing I Dr. Mahdi Jufri M.Si., Apt. ()

Pembimbing II Dr. Berna Elya Apt., M.Si., Apt. ()

Ketua Sidang Dr. Abdul Munim, M.Si., Apt. ()

Sekretaris Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, MSi., Apt. ()

Penguji I Dr. Iskandarsyah, M Si.,Apt. ()

Penguji II Dr. Fadlina Chany S., M Si., Apt. ()

KATA PENGANTAR

Segala puji-pujian dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas segala rahmat, berkat-Nya yang melimpah, penulis dapat menyelesaikan tesis ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Herbal Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

Tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak sejak masa perkuliahan dan masa penyusunan tesis, sulit bagi penulis untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih dan rasa hormat dengan segala kerendahan dan ketulusan hati kepada:

1. Dr. Mahdi Jufri M.Si., Apt. sebagai dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu dan pikiran serta memberikan ilmu-ilmu bermanfaat untuk membantu dan mengarahkan penulis dalam penyusunan tesis ini;
2. Dr. Berna Elya M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing dan pembimbing akademik yang telah memberikan banyak perhatian, saran, ilmu-ilmu bermanfaat dan bantuan selama ini;
3. Dr. Abdul Mun'im, MS., Apt., selaku Ketua Program Studi Magister Herbal Fakultas Farmasi UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan tesis ini;
4. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi UI atas segala ilmu pengetahuan dan bimbingannya;
5. Bapak, Ibu laboran dan karyawan Fakultas Farmasi UI terutama Pak Surya, Pak Imi, Pak Agus, mas Wisnu, mbak dan Mbak Lia atas bantuan yang telah diberikan selama penelitian.
6. Mas Arhad yang telah memberikan kesempatan dan kemudahan ketika penulis melakukan penelitian di Laboratorium Fakultas Bioteknologi Universitas Atmajaya, Semanggi.
7. Pak Michael, Pak Erphan, Pak Vecky yang telah membantu saat penulis melakukan penelitian di Laboratorium TEM, Departemen Fisik FMIPA UI.

8. Timothy, Mama Giok Tju, Papa Mui Seng, Mama Maggie, Papa Wenas, Sheralova dan Sharon yang tercinta yang telah memberi dukungan, kasih sayang, semangat dan doa yang menyertai penulis selama ini;
9. Wenny, Delly, Pulan, Dara, Rimenda, Endang, Mira, Emma, Dien Ayu, Luli, Bu Bina, Nadya, Nisa, Dinar dan Pak Raditya yang telah banyak membantu dan bersedia mendengarkan keluh-kesah penulis dalam proses penulisan tesis ini serta rekan-rekan Magister Herbal One lainnya atas dukungan, semangat, rasa kebersamaan, dan persaudaraan yang indah selama ini;
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah memberikan semangat, dukungan dan bantuannya dalam mempermudah dan memberikan jalan selama penelitian dan penulisan tesis ini hingga selesai.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan tesis ini masih . Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima segala kritik dan saran di masa depan. Semoga tesis ini dapat bermanfaat secara umum bagi pengembangan ilmu pengetahuan serta secara khusus bagi pengembangan ilmu herbal.

Penulis

2013

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Desy Muliana Wenas
NPM : 1006787174
Program Studi : Magister Herbal
Fakultas : Farmasi
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Penetrasi Krim Liposom yang mengandung Fraksi Diklorometana dari Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Antioksidan

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 16 Juli 2013
Yang menyatakan

(Desy Muliana Wenas)

ABSTRAK

Nama : Desy Muliana Wenas
Program Studi : Magister Herbal
Judul : Uji Penetrasi Krim Liposom yang Mengandung Fraksi Diklorometana dari Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Antioksidan

Liposom merupakan sistem pembawa obat yang dapat meningkatkan efektivitas penghantaran obat berbahan utama lipid agar mudah terpenetrasi dalam kulit. Ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi terutama fraksi diklorometana. Fraksi diklorometana digunakan dalam formulasi liposom dan dibuat liposom triplo. Presipitat yang telah dipisahkan dari supernatan akan digunakan untuk membuat krim liposom 5%, 10%, dan 15%. Tujuan penelitian untuk menguji daya penetrasi α -Mangostin dalam krim liposom. Ketiga formulasi krim liposom dan krim fraksi diklorometana diuji daya penetrasinya secara *in vitro* dengan alat sel difusi Franz menggunakan membran abdomen tikus galur *Sprague-Dawley*. Jumlah kumulatif α -Mangostin yang terpenetrasi dari krim liposom 5%, 10%, 15% dan krim fraksi ialah $1,65 \pm 2,22$; $3,95 \pm 0,13$; $8,27 \pm 0,14$; dan $3,44 \pm 0,27$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Presentase jumlah α -Mangostin yang terpenetrasi dari krim liposom 5%, 10%, 15% dan krim fraksi ialah $1,43 \pm 1,92$ %; $1,72 \pm 0,06$ %; $2,4 \pm 0,04$ %; dan $0,24 \pm 0,02$ %. Fluks dari krim liposom 5%, 10%, 15% dan krim fraksi ialah $0,058 \pm 0,07$; $0,088 \pm 0,04$; $0,349 \pm 0,25$; $0,22 \pm 0,046$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa krim liposom 15% memiliki daya penetrasi terbaik bila dibandingkan dengan krim liposom 5%, krim liposom 10%. krim fraksi diklorometana yang dibuat menunjukkan kestabilan fisik. Uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil) dilakukan untuk mengetahui nilai IC_{50} dari krim liposom masing-masing konsentrasi. Aktivitas antioksidan terbaik pada sampel penetrasi SDF krim liposom 10% dengan nilai AEAC 187,861 ppm. Krim liposom telah yang telah diuji menunjukkan stabilitas fisik pada berbagai suhu penyimpanan, uji mekanik dan *cycling test*.

Kata kunci : antioksidan, Sel Difusi Franz, DPPH, fraksi diklorometana, KLT, krim liposom, manggis, *microplate*, pericarp

xvii + 177 halaman : 30 gambar; 4 tabel; 90 lampiran
Daftar acuan : 89 (1982-2012)

ABSTRACT

Name : Desy Muliana Wenas

Program Study: Graduate Herbal

Title : Skin Penetration Test of Liposome Cream that Contains Fraction of Dichloromethane from Methanol Extract of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Pericarp As Antioxidant

Liposome is a drug carrier system that can enhance the effectiveness of drug delivery which is made from the lipid that easily penetrated into the skin. The methanol extract of mangosteen pericarp (*Garcinia mangostana* L.) has been proved rich in xanthone compounds that have very high potential of antioxidant activity, especially the fractionation of dichloromethane (FD). The aim of this study to test the penetration ability of liposomal cream throughout mouse's skin. The FD has been used in making liposome as triploid. The precipitate of liposome with the best entrapment efficiency of liposome (77,09%) is used in making liposomal cream (LC) with 5%, 10% and 15% concentration. The liposome had been made as triploid and the precipitate of the liposome with the best entrapment efficiency will be used in LC. The three dosage forms and FD cream was examined their physical stability and penetration ability by in vitro Franz Diffusion Cell test using *Sprague-Dawley* rat abdomen skin as diffusion membrane. Total cumulative penetration of α -mangostin from 5%, 10% and 15% (LC) and FDC were $1,65 \pm 2,22$; $3,95 \pm 0,13$; $8,27 \pm 0,14$; and $3,44 \pm 0,27$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. The percentage of penetrated α -mangostin from 5%, 10% and 15% LCs and DFC were $1,43 \pm 1,92$ %; $1,72 \pm 0,06$ %; $2,4 \pm 0,04$ %; dan $0,24 \pm 0,02$ % respectively. Flux of α -mangostin from 5%, 10% and 15% LCs and DFC were $0,058 \pm 0,07$; $0,088 \pm 0,04$; $0,349 \pm 0,25$; $0,22 \pm 0,046$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hour}$, respectively. Penetration ability of 15% LC is higher than FDC, 5% and 10% LCs. The method was used in this study the reduction of DPPH (2,2-Diphenyl-1-pikril hidrazil) to determine the IC_{50} value of LC. IC_{50} values of the FD was 17.47 ppm. The best antioxidant activity with AEAC value 187.861 ppm is penetration sample of 10% LC.

Keywords : antioxidant, Cell Diffusion Franz, dichloromethane fraction, DPPH, entrapment efficiency, liposome cream, mangosteen pericarp

xvii + 177 pages : 30 pictures; 4 tables; 90 appendices

Bibliography : 89 (1982-2013)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.2.1 Tujuan Umum	3
1.2.2 Tujuan Khusus	4
1.3 Hipotesis Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Manggis.....	5
2.1.1 Taksonomi	5
2.1.2 Ekologi dan Penyebaran	5
2.1.3 Morfologi	6
2.1.4 Kandungan Kimia	6
2.1.5 Manfaat	7
2.2 Kulit	8
2.2.1 Definisi	8
2.2.2 Anatomi	8
2.2.3 Fungsi Kulit	9
2.3 Absorpsi Obat Melalui Kulit	11
2.3.1 Absorpsi Transepidermal	12
2.3.2 Absorpsi Transappendageal	12
2.4 Penuaan Kulit	13
2.4.1 Gambar Penuaan Kulit secara umum	13
2.4.2 Penuaan Intrinsik	14
2.4.3 Penuaan Ekstrinsik	14
2.4.5 Kosmetik untuk Perbaikan Kulit Menua	16
2.5 Kromatografi Lapis Tipis	17
2.5.1 Penggunaan KLT	17
2.5.2 Fase Diam	18

2.5.3 Fase Gerak	18
2.5.4 Pengamatan Bercak	18
2.5.5 Analisis Bercak menggunakan KLT densitometri	19
2.6 Liposom.....	19
2.6.1 Klasifikasi Liposom	21
2.6.2 Metode Preparasi Liposom	21
2.7 Kosmetik	29
2.8 Krim	29
2.8.1 Bahan Krim	30
2.8.1.1 Asam Stearat	30
2.8.1.2 Setil Alkohol	31
2.8.1.3 Gliseril Monostearat	31
2.8.1.4 Isopropil Miristat	32
2.8.1.5 Trietanolamin	33
2.8.1.6 Metilparaben.....	33
2.8.1.7 Propilparaben	34
2.8.1.8 Propilenglikol	35
2.8.1.9 Natrium Metabisulfit.....	36
2.8.2 Stabilitas Krim	36
2.8.2.1 Indikator Kerusakan Emulsi.....	36
2.8.2.2 Uji Stabilitas Dipercepat	37
2.8.2.3 Parameter Uji Stabilitas	38
2.9 Penetapan Daya Penetrasi Sediaan	39

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	40
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	40
3.2 Alat	40
3.3 Bahan	41
3.4 Cara Kerja	41
3.4.1 Persiapan Fraksi Diklorometana.....	41
3.4.1.1 Persiapan Simplisia	41
3.4.1.2 Ekstraksi Kulit Buah Manggis	41
3.4.1.3 Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Manggis.....	42
3.4.2 Penapisan Fitokimia.....	42
3.4.3 Penetapan Kadar α -Mangostin dalam Fraksi DCM dengan KLT Densitometri	43
3.4.3.1 Pemilihan Eluen untuk Penetapan Kadar α -Mangostin.....	43
3.4.3.2 Penyiapan Larutan Standar α -Mangostin untuk Pembuatan Kurva Kalibrasi.....	44
3.4.3.3 Proses Pengembangan pada Lempeng KLT	45
3.4.3.4 Pemilihan Panjang Gelombang Optimum	45
3.4.3.5 Perhitungan Kadar α -Mangostin	45
3.4.4 Pembuatan Liposom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis.....	
3.4.4.1 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 7,4	46
3.4.4.2 Pembuatan Liposom	46
3.4.4.4 Pemurnian Liposom	47

3.4.4.5 Evaluasi Liposom.....	47
3.4.4.5.1 Morfologi Bentuk Vesikel	47
3.4.4.5.2 Distribusi Ukuran Partikel Liposom.....	48
3.4.5 Penentuan Efisiensi Penjerapan	48
3.4.5.1 Persiapan Larutan Liposom Total dan Supernatan...	48
3.4.5.2 Perhitungan Efisiensi Penjerapan Liposom.....	48
3.4.6 Pembuatan Sediaan Krim	49
3.4.7 Evaluasi Sediaan Krim	50
3.4.7.1 Pengamatan Oganoleptis	50
3.4.7.2 Pengamatan Homogenitas	51
3.4.7.3 Pengukuran pH	51
3.4.7.4 Pemeriksaan Konsistensi.....	51
3.4.7.5 Penentuan Viskositas dan Sifat Alir	51
3.4.7.6 Pengukuran Diameter Globul Rata-rata.....	52
3.4.8 Uji Stabilitas.....	52
3.4.8.1 Metode <i>cycling test</i>	52
3.4.8.2 Suhu Tinggi	52
3.4.8.3 Suhu Kamar	52
3.4.8.4 Suhu Rendah.....	52
3.4.8.5 Uji Sentrifugasi.....	53
3.4.9 Uji Perolehan Kembali a-Mangostin dalam Sediaan	54
3.4.10 Uji Penetrasi a-Mangostin secara <i>in vitro</i>	54
3.4.11 Uji Antioksidan pada Fraksi, Krim Liposom.....	55
BAB 4 PEMBAHASAN	57
4.1 Ekstraksi Kulit Buah Manggis.....	57
4.2 Fraksinasi Ekstrak Metanol dari Kulit Buah Manggis	58
4.3 Evaluasi Serbuk Fraksi Diklorometana.....	60
4.3.1 Uji Fitokimia	60
4.3.2 Penetapan Kadar α -Mangostin secara KLT Densitometri.....	61
4.4 Pembuatan Liposom	61
4.5 Pemurnian Liposom	63
4.6 Evaluasi Liposom	65
4.7 Pembuatan Sediaan Krim Liposom	67
4.8 Evaluasi Sediaan Krim.....	68
4.9 Uji Stabilitas Fisik Sediaan Krim	72
4.10 Uji Penetrasi secara <i>in vitro</i>	80
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	91
DAFTAR ACUAN	92

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Alur radiasi UV pada kulit	16
Gambar 2.2 Liposom unilamellar kecil	21
Gambar 2.3 Mekanisme ultrasonikasi	25
Gambar 2.4 Struktur kimia fosfatidilkolin	28
Gambar 2.5 Struktur kimia kolesterol.....	29
Gambar 2.6 Struktur kimia asam stearat.....	31
Gambar 2.7 Struktur kimia setil alkohol.....	32
Gambar 2.8 Struktur kimia gliseril monostearat.....	33
Gambar 2.9 Struktur kimia isopropil miristat	34
Gambar 2.10 Struktur kimia trietanolamin	34
Gambar 2.11 Struktur kimia metil paraben.....	34
Gambar 2.12 Struktur kimia propil paraben.....	35
Gambar 2.13 Struktur kimia propilen glikol.....	36
Gambar 2.14 Struktur kimia natrium metabisulfit	36
Gambar 4.1 Ekstrak Metanol dari Kulit Buah Manggis.....	59
Gambar 4.2 Pemurnian Liposom.....	64
Gambar 4.3 Supernatan dan Presipitat Liposom.....	64
Gambar 4.4 Hasil TEM.....	66
Gambar 4.5 Rheogram krim liposom 5% minggu ke-0.....	70
Gambar 4.6 Data diameter globul krim liposom pada minggu ke-0.....	72
Gambar 4.7 Viskositas krim liposom minggu ke-0 dan minggu ke-12.....	75
Gambar 4.8 Konsistensi krim liposom minggu ke-0 dan minggu ke-12.....	76
Gambar 4.9 Pengamatan pH pada krim liposom 5%	77
Gambar 4.10 Pengamatan pH pada krim liposom 10%	77
Gambar 4.11 Pengamatan pH pada krim liposom 15%	78
Gambar 4.12 Perubahan diameter globul rata-rata sediaan krim.....	79
Gambar 4.13 Uji Mekanik pada sediaan krim liposom.....	80
Gambar 4.14 Uji Mekanik pada sediaan krim liposom.....	85
Gambar 4.15 Fluks α -Mangostin tiap waktu pengambilan.....	86
Gambar 4.16 Jumlah kumulatif α -Mangostin terpenetrasi	86

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Formulasi Liposom Fraksi Diklorometana.....	47
Tabel 3.2 Formulasi Krim.....	49
Tabel 3.3 Formulasi Krim Liposom	50
Tabel 4.1 Hasil uji aktivitas antioksidan.....	89

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kurva serapan maksimum standar α -mangostin hasil deteksi TLC <i>Scanner CAMAG</i>	100
Lampiran 2. Penentuan panjang gelombang maksimum untuk antioksidan.....	101
Lampiran 3. Hasil analisis PSA liposom	102
Lampiran 4. Hasil analisis PSA sediaan krim liposom.....	104
Lampiran 5. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin dalam perhitungan efisiensi Penjerapan.....	108
Lampiran 6. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk UPK	108
Lampiran 7. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan krim liposom 5%	109
Lampiran 8. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan krim liposom 10%	109
Lampiran 9. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan krim liposom 15%	110
Lampiran 10. Jumlah kumulatif α -Mangostin terpenetrasi per satuan waktu pada membran percobaan 1 dari sediaan krim liposom 5% (a), liposom 10% (b), krim liposom 15% (c) , dan (d) krim fraksi diklorometana	111
Lampiran 11. Jumlah kumulatif α -Mangostin terpenetrasi per satuan waktu pada membran percobaan 2 dari krim liposom 5% (a), krim liposom 10% (b), krim liposom 15% (c) , dan (d) krim fraksi diklorometana	112
Lampiran 12. Jumlah kumulatif α -Mangostin terpenetrasi per satuan waktu pada membran percobaan 3 dari sediaan krim liposom 5% (a), liposom 10% (b), krim liposom 15% (c) , dan (d) krim fraksi diklorometana	113
Lampiran 13. Rheogram krim blanko pada minggu ke-0 dan ke-12.....	118
Lampiran 14. Kurva kalibrasi kontrol positif pada Uji Aktivitas Antioksidan metode DPPH menggunakan <i>mikroplate reader</i>	118
Lampiran 15. Uji stabilitas krim liposom 5% penyimpanan suhu rendah.....	119
Lampiran 16. Uji stabilitas krim liposom 5% penyimpanan suhu kamar.....	120
Lampiran 17. Uji stabilitas krim liposom 5% penyimpanan suhu tinggi	121
Lampiran 18. Uji stabilitas krim liposom 10% penyimpanan suhu rendah.....	122
Lampiran 19. Uji stabilitas krim liposom 10% penyimpanan suhu kamar.....	123
Lampiran 20. Uji stabilitas krim liposom 10% penyimpanan suhu tinggi	124
Lampiran 21. Uji stabilitas krim liposom 15% penyimpanan suhu rendah.....	125
Lampiran 22. Uji stabilitas krim liposom 15% penyimpanan suhu kamar.....	126

Lampiran 23. Uji stabilitas krim liposom 15% penyimpanan suhu tinggi	127
Lampiran 24. Penampilan krim liposom 5%, 10%, 15% pada <i>cycling test</i>	128
Lampiran 25. Penampilan globul krim liposom 5% pada minggu ke-0.....	129
Lampiran 26. Hasil analisis PSA sediaan krim	135
Lampiran 27 Data Kadar Supernatan Liposom	135
Lampiran 28. Data Kadar Konsentrasi Total Liposom.....	135
Lampiran 29. Data Efisiensi Penjerapan Liposom	135
Lampiran 30. Data Kadar α -Mangostin dalam Fraksi	136
Lampiran 31. Hasil Pengamatan Organoleptis Krim Liposom 5%	136
Lampiran 32. Hasil Pengamatan Organoleptis Krim Liposom 10%	137
Lampiran 33. Hasil Pengamatan Organoleptis Krim Liposom 15%	137
Lampiran 34. Hasil Pengamatan pH Sediaan Krim Liposom 5%	138
Lampiran 35. Hasil Pengamatan pH Sediaan Krim Liposom 10%	138
Lampiran 36. Hasil Pengamatan pH Sediaan Krim Liposom 15%	138
Lampiran 37. Nilai Viskositas krim Blanko Minggu Ke-0.....	139
Lampiran 38. Nilai Viskositas krim Liposom 5% Minggu Ke-0	139
Lampiran 39. Nilai Viskositas Krim Liposom 10% Minggu Ke-0	140
Lampiran 40. Nilai Viskositas Krim Liposom 15% Minggu Ke-0	140
Lampiran 41. Nilai Viskositas Krim Blanko Minggu Ke-12.....	141
Lampiran 42. Nilai Viskositas Krim Liposom 5% Minggu Ke-12	141
Lampiran 43. Nilai Viskositas Krim Liposom 10% Minggu Ke-12	142
Lampiran 44. Nilai Viskositas Krim Liposom 15% Minggu Ke-12	142
Lampiran 45. Data Viskositas Sediaan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 ..	143
Lampiran 46. Hasil Konsistensi Krim Liposom.....	143
Lampiran 47. Hasil <i>Cycling Test</i>	143
Lampiran 48. Diameter globul Krim Liposom 5% suhu rendah minggu ke-12	144
Lampiran 49. Diameter globul Krim Liposom 10% suhu rendah minggu ke-12	144
Lampiran 50. Diameter globul Krim Liposom 15% suhu rendah minggu ke-12	145
Lampiran 51. Diameter globul Krim Liposom 5% suhu kamar minggu ke-12 .	145
Lampiran 52. Diameter globul Krim Liposom 10% suhu kamar minggu ke-12	146
Lampiran 53. Diameter globul Krim Liposom 15% suhu kamar minggu ke-12	146
Lampiran 54. Diameter globul Krim Liposom 5% suhu tinggi minggu ke-12..	147
Lampiran 55. Diameter globul Krim Liposom 10% suhu tinggi minggu ke-12	147
Lampiran 56. Diameter globul Krim Liposom 15% suhu tinggi minggu ke-12	148
Lampiran 57. Data Uji Perolehan Kembali dalam sediaan	148
Lampiran 58. Hasil uji penetrasi alfa mangostin dalam larutan metanol-dapar fosfat pH 7,4 dari sediaan krim liposom 5%, 10%, 15% selama 8 jam (standar deviasi, n = 3)	149
Lampiran 59. Hasil perhitungan fluks alfa mangostin tiap pengambilan krim liposom 5%, 10%, 15% selama 8 jam (standar deviasi, n = 3) ...	149

Lampiran 60. Jumlah kumulatif α -Mangostin terpenetrasi, presentase jumlah α -Mangostin yang terpenetrasi, dan fluks α -Mangostin dari krim liposom 5%, 10%, 15% selama 8 jam (standar deviasi, n = 3) ...	150
Lampiran 61. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan krim liposom 5%	150
Lampiran 62. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan krim liposom 10%.....	151
Lampiran 63. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari krim liposom 15% dan fraksi DCM	151
Lampiran 64. Cara perhitungan rendemen.....	152
Lampiran 65. Perhitungan Efisiensi Penjerapan Liposom.....	152
Lampiran 66. Contoh perhitungan <i>yield value</i> dari pengukuran konsistensi sediaan krim blanko pada minggu ke-0.....	152
Lampiran 67. Contoh perhitungan jumlah α -Mangostin yang terpenetrasi dari krim liposom 5% pada menit ke-10 untuk percobaan pertama ...	153
Lampiran 68. Contoh perhitungan jumlah α -Mangostin yang terpenetrasi dari krim liposom 5% pada menit ke-30 untuk percobaan pertama ...	154
Lampiran 69. Contoh perhitungan fluks α -Mangostin dari krim liposom.....	155
Lampiran 70. Contoh perhitungan presentase jumlah kumulatif α -Mangostin terpenetrasi dalam sediaan krim 10%	156
Lampiran 71. Skema penelitian secara umum	157
Lampiran 72. Skema cara kerja ekstraksi	158
Lampiran 73. Skema analisis Fitokimia senyawa Alkaloid	159
Lampiran 74. Skema analisis Fitokimia senyawa fenolik	160
Lampiran 75. Skema analisis Fitokimia senyawa Steroid/Flavonoid.....	161
Lampiran 76. Skema analisis Fitokimia senyawa Hidrokuinon.....	162
Lampiran 77. Surat Determinasi Simplisia dari LIPI Cibinong	163
Lampiran 78. Hasil uji fitokimia	164
Lampiran 79. Hasil Uji Antioksidan IC50 dan AEAC	165
Lampiran 80. Keterangan Lolos Kaji Etik dari FK UI	166
Lampiran 81. Surat pernyataan jenis tikus percobaan dari BPOM	167
Lampiran 82. Sertifikat Analisis α -Mangostin	168
Lampiran 83. Sertifikat Analisis Fosfatidilkolin	169
Lampiran 84. Sertifikat Analisis Kolesterol.....	170
Lampiran 85. Sertifikat Analisis Propilen Glikol.....	171
Lampiran 86. Sertifikat Analisis Tween 80	172
Lampiran 87. Sertifikat Analisis Setil Alkohol	173
Lampiran 88. Sertifikat Analisis Metilparaben	174
Lampiran 89. Sertifikat Analisis Propilparaben	175
Lampiran 90. Sertifikat Analisis Vitamin C	176

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Setiap manusia akan mengalami proses penuaan secara perlahan-lahan dan kulit merupakan salah satu jaringan tubuh yang secara langsung memperlihatkan terjadinya proses penuaan (Wasitaatmadja, 2007). Kulit yang menua seringkali menjadi kering, disebabkan kadar air di dalam lapisan atas kulit berkurang dan fungsi kelenjar minyak serta kelenjar keringat menurun. Permukaan kulit menjadi kasar dan kusam, timbul kerutan kulit dan lipatan kulit yang nyata, serta kehilangan daya elastisitas (Jusuf, 2005).

Penuaan kulit dapat ditangani dengan menggunakan kosmetik yang mengandung antioksidan. Penggunaan kosmetik tersebut didasarkan pada teori radikal bebas. Teori radikal bebas menggambarkan bahwa penuaan terjadi akibat akumulasi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species (ROS)* sebagai hasil dari proses metabolisme aerobik. Pembentukan ROS meningkat pada kulit menua (Hensley & Floyd, 2002). Antioksidan dapat mengurangi radikal bebas menjadi molekul yang kurang reaktif, sehingga menghindari dan mengurangi kerusakan oksidatif (Yaar & Gilchrest, 2007). Penggunaan antioksidan dalam perawatan antipenuaan kulit sangat penting untuk mencegah terjadinya kerusakan kulit lebih lanjut (Graf, 2005).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu/lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono, 2002). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan dari luar tubuh. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan dari bahan alam menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Rohdiana, 2001; Sunarni, 2005).

Buah manggis merupakan salah satu buah yang digemari oleh masyarakat Indonesia serta sering diekspor ke luar negeri. Kulit buah manggis biasanya

dibuang oleh konsumen, diketahui mengandung senyawa xanton sebagai antioksidan dan antimikroba (Marwati dkk., 2008). Xanton termasuk α -mangostin efektif melawan kanker payudara secara *in-vitro* dan obat penyakit jantung. (Qosim, 2007). Alfa-mangostin merupakan salah satu senyawa utama dalam kulit buah manggis. Selain dapat memicu kematian sel apoptosis pada sel kanker, α -mangostin juga dapat mencegah toksisitas terhadap tekanan oksidatif dengan melindungi mitokondria dari kerusakan peroksidatif (Martínez-Abundis, 2010).

Senyawa α -mangostin merupakan senyawa xanton dari kulit buah manggis yang memiliki sifat hidrofilik (Miksusanti dkk., 2011) sehingga perlu menggunakan suatu cara agar mudah terpenetrasi dalam kulit manusia. Liposom dapat menjadi sebagai sistem penghantar topikal dermal yang dapat menembus stratum korneum dan salah satu cara pembawa bahan obat yang bersifat hidrofilik. Hal tersebut dikarenakan liposom dapat menyerap berbagai variasi polaritas obat, baik hidrofilik maupun lipofilik. Obat yang bersifat hidrofilik dapat terjerap dalam inti kompartemen berair, sedangkan obat lipofilik dapat terjerap ke dalam membran lipid (Liu, 2008). Liposom sebagai sistem penghantar topikal dermal yang dapat menembus stratum korneum dan memiliki daya absorpsi optimal. Dengan keistimewaan tersebut, formulasi liposom digunakan dalam meningkatkan pengiriman obat herbal (Mukherjee, 2009) ke dalam kulit. Liposom merupakan vesikel kecil berbentuk sferis/bulat yang terdiri dari dua lapis fosfolipid (Samad *et al.*, 2007) yang memiliki sifat yang sama dengan kulit manusia yang juga terdiri dari fosfolipid bilayer. Liposom sebagai pembawa bahan dalam kosmetik memiliki keuntungan karena lipid yang terpenetrasi dengan baik dapat mengurangi kekeringan pada kulit yang merupakan penyebab utama penuaan dan sebagian besar produk dengan pembawa liposom adalah sediaan anti-penuaan (Lipowsky dan Sackmann, 1995). Penerapan teknologi liposom untuk sediaan topikal telah terbukti efektif dalam penghantaran obat ke dalam kulit (Venkateswarlu *et al.*, 2011).

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari α -mangostin telah banyak dilakukan (Hyun-Ah *et al.*, 2006; Kondo *et al.*, 2009; Zarena dan Sankar, 2009) namun belum pernah ada penelitian mengenai kemampuan penetrasi krim fraksi

diklorometana dan krim liposom yang mengandung fraksi diklorometana, oleh karena itu perlu dilakukan. Pada penelitian ini dibuat formula krim liposom yang mengandung ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.), lalu ditetapkan daya penetrasinya secara *in vitro* dengan teknik sel difusi Franz. Membran yang dapat digunakan dalam uji penetrasi kulit ialah membran hewan dan membran artifisial. Membran artifisial dapat digunakan sebagai bahan uji dalam uji penetrasi, namun membran artifisial memiliki faktor kecepatan berpenetrasi yang terbatas, sehingga difusi melalui membran biologis lebih memungkinkan bila dibandingkan dengan membran sintetik tidak berpori. Oleh karena itu, membran yang digunakan dalam uji penetrasi kulit dalam penelitian ini ialah membran biologis dari tikus. Sebagai model absorpsi melalui jaringan kulit manusia, difusi obat melalui kulit tikus lebih baik daripada kulit hewan lain (Bronaugh *et al.* 1982; Foreman *et al.* 1983). Selain mudah diperoleh dan dimanipulasi selama penelitian, alasan pemilihan kulit tikus dalam uji penetrasi kulit bahwa kulit tikus tanpa rambut merupakan membran hewan yang paling sesuai dengan sifat difusi epidermis manusia (Smith dan Haigh, 1992).

1.2 Perumusan Masalah

Hal yang belum diketahui ialah daya penetrasi sediaan krim liposom ekstrak kulit buah *Garcinia mangostana* terhadap kulit tikus uji.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui manfaat secara *in vitro* liposom yang mengandung fraksi diklorometan dari ekstrak kulit buah manggis setelah dibuat sediaan krim.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Memperoleh karakteristik simplisia, ekstrak dan fraksi diklorometana dari kulit buah manggis.
- c. Mengevaluasi sediaan krim liposom
- d. Mengetahui stabilitas sediaan krim liposom

- e. Menetapkan daya penetrasi secara *in vitro* pada sediaan krim liposom yang mengandung fraksi dari ekstrak kulit buah manggis.

1.4 Hipotesis Penelitian

Sediaan krim liposom fraksi diklorometana kulit buah manggis dapat berpenetrasi melalui kulit secara *in vitro* lebih baik dibandingkan dengan krim fraksi diklorometana yang tidak dibuat liposom.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Manggis

2.1.1 Taksonomi (Hutapea *et al.*, 1994)

Taksonomi dari manggis adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Guttiferales (Clusiales)
Suku	: Guttiferae (Clusiaceae)
Marga	: <i>Garcinia</i>
Jenis	: <i>Garcinia mangostana</i> L.
Nama Indonesia	: manggis

Simplisia yang digunakan: kulit buah (*Garcinia* pericarpium)

Nama umum manggis berbeda untuk beberapa bahasa, yaitu mangosteen, purple mangosteen, queen of fruit (Inggris, Amerika); *mang khút* (Thailand); Vietnamese: *cây măng cụt* (Vietnam); *mangosuchin* (Jepang); *mangostan*, *mangostanier*, *mangoustan*, *mangoustanier* (Perancis).

2.1.2 Ekologi dan Penyebaran

Garcinia mangostana L. memerlukan iklim tropis untuk tumbuh dengan baik. Spesies tersebut mungkin berasal dari kepulauan Sunda Besar. Pertumbuhan manggis secara alamiah ditemukan di semenanjung Malaya, Myanmar, Thailand, Kamboja, Vietnam sampai kepulauan Maluku. Penyebarannya kemudian meliputi Srilanka, Filipina, Australia bagian Utara, Amerika Tengah sampai Florida (Tirtawinata, Wijaya dan Tuherkih, 2000).

2.1.3 Morfologi

Manggis adalah pohon berbuah dengan tinggi mencapai sekitar 6-25 m. Batang kayu bulat, dengan percabangan simetris. Daun tunggal dengan bentuk lonjong, ujung meruncing, pangkal yang tumpul dan tepi rata, pertulangan menyirip, panjang daun sekitar 20-25 cm, lebar 6-9 cm. Helaian daun kaku dan tebal. Permukaan daun bagian atas berkilat, mengkilat, dan berwarna hijau tua. Permukaan daun bagian bawah hijau muda pupus. Daun muda berwarna coklat kemerahan, kemudian tumbuh dan berubah menjadi coklat kehijauan, hijau muda, lalu hijau tua. Manggis berbunga tunggal dan berkelamin dua, berada di ketiak daun dengan panjang sekitar 1-2 cm, dan berwarna merah muda. Buah berbentuk bulat dengan diameter 6-8 cm, berwarna ungu gelap sampai ungu kemerahan. Permukaan luar kulit buah mulus, berdiameter 34-75 mm. Tebal kulit 6-10 mm dan berwarna merah. Daging buah berwarna putih, membungkus biji/endokarp. Satu buah manggis terdapat 5-7 biji yang berbentuk bulat dan berwarna kuning dengan diameter 2 cm. Berakar tunggang dengan warna putih kecokelatan (Hutapea *et al.*, 1994; Mabberley, 1997; Small, 2011; Tirtawinata, Wijaya dan Tuherkih, 2000)

Buah berbentuk bulat dengan diameter 6-8 cm, berwarna ungu gelap sampai ungu kemerahan. Permukaan luar kulit buah mulus, berdiameter 34-75 mm. Tebal kulit 6-10 mm dan berwarna merah (Hutapea *et al.*, 1994). Buah manggis berjuring 4-8 buah, tiap juring terdiri atas daging buah yang berwarna putih, lunak, memiliki rasa manis dan enak. Tiap juring terdapat biji dan adapula tidak terdapat biji. Warna biji coklat kehitaman (Nusmawarheni, Prihantini dan Pohan, 1990).

2.1.4 Kandungan kimia

Kulit buah manggis mengandung senyawa xanton (Kosem *et al.* 2007). Xanton merupakan senyawa polifenol berupa cincin aromatik trisiklik yang disubstitusi dengan variasi dari isopren, fenolik dan metoksi yang paling banyak terdapat dalam manggis (Obolskiy *et al.*, 2009). Xanton yang dapat dijumpai dalam

kulit buah manggis, antara lain alfa-mangostin, beta-mangostin, gamma-mangostin, (Chairungsrikerd *et al.* 1996; Pothitirat *et al.* 2009).

2.1.5 Manfaat

Kulit buah manggis telah dimanfaatkan secara tradisional untuk mengobati diare dan infeksi kulit (Gritsanapan, 1994; Suksamrarn *et al.*, 2003). Ekstrak metanol dari kulit buah manggis memiliki potensi aktivitas antioksidan dan mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (Moongkarndi *et al.*, 2004). Ekstrak buah manggis dapat menghambat pelepasan histamin dan sintesis prostaglandin E2 dalam mencegah timbulnya reaksi alergi (Nakatani *et al.* 2002). Ekstrak kulit dari buah manggis memiliki aktivitas antioksidan (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2008).

Alfa-mangostin merupakan salah satu senyawa utama dalam kulit buah manggis, mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dengan MIC 6,25 µg/mL (Suksamrarn *et al.*, 2003). Senyawa α -mangostin juga memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* dan memiliki potensi yang lebih besar daripada nistatin dan klotrimazol (Kaomongkolgit *et al.*, 2009). Menurut Matsumoto *et al.* (2003), α -mangostin berpotensi untuk membunuh sel line kanker leukemia HL60. Senyawa xanton tersebut dapat memicu (kematian sel) apoptosis pada sel kanker α -mangostin juga dapat mencegah toksisitas terhadap tekanan oksidatif dengan melindungi mitokondria dari kerusakan peroksidatif (Martínez-Abundis, 2010).

Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa α -mangostin memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa α -mangostin memiliki efek antiperoksidatif pada jaringan otak tikus sebagai pemecah radikal bebas, dengan terbukti dapat menurunkan lipoperoksidasi secara signifikan dan mencegah penurunan kemampuan kerja mitokondria (Márquez-Valadez *et al.*, 2009). Hasil evaluasi aktivitas antioksidan pada 14 senyawa xanton hasil isolasi dari kulit buah manggis ialah α -mangostin memiliki aktivitas antioksidan peroksinitrit terbesar dengan menghambat lesi preneoplastik yang diinduksi dengan 7,12-dimetilbenz[α]antrasen dalam uji kultur organ payudara mencit dengan IC₅₀ of 1,0

$\mu\text{g/mL}$ (2,44 μM). Hal tersebut menunjukkan bahwa α -mangostin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dibandingkan dengan senyawa xanton lainnya dalam kulit buah manggis (Hyun-Ah *et al.*, 2006).

2.2 Kulit

Kulit merupakan adalah organ tubuh yang terletak paling luar. Kulit merupakan organ yang esensial dan vital serta merupakan cermin kesehatan dan kehidupan. Kulit sangat kompleks, elastis dan sensitif, serta bervariasi pada keadaan iklim, umur, seks, ras, dan lokasi tubuh (Wasitaatmadja, 2010). Kulit manusia mempunyai ketebalan yang bervariasi 0,5-5,0 mm dengan luas permukaan 2 m² dan berat sekitar 4 kg jika tanpa lemak dan 10 kg jika dengan lemaknya (Tranggono dan Latifah, 2007)

2.2.1 Anatomi (Seeley *et al.*, 2003)

2.2.1.1 Epidermis

Lapisan terluar dari kulit yang dilapisi film emulsi lipid yang memiliki pH asam dan berperan sebagai “mantel asam” atau permukaan lipid. Epidermis terdiri dari empat bagian yaitu stratum korneum (lapisan tanduk), stratum lusidum (lapisan granular), stratum granulosum (lapisan malpigi) dan stratum germinativum (lapisan basal). Normalnya dibutuhkan 3-4 minggu untuk replikasi epidermis dengan proses divisi dan diferensiasi. Stratum korneum terbuat dari sel keratin yang mati dan secara konstan terkelupas, lapisan film lipid dan stratum korneum kontak langsung dengan lingkungan dan memungkinkan aplikasi obat secara topikal.

2.2.1.2 Dermis

Dermis berhubungan dengan epidermis pada sambungan *epidermal-dermal junction*. Tebalnya satu sampai empat kali tebal epidermis, tergantung pada area tubuh. Secara metabolisme, dermis kurang aktif dibandingkan dengan epidermis serta terdiri dari polisakarida dan protein (kolagen dan elastin).

Matriks ini terdiri dari saraf, pembuluh darah, folikel rambut, kelenjar sebacea dan kelenjar keringat. Pada dermis terdapat sel mast, makrofag,

melanosit, leukosit dan sel endotelial dari pembuluh darah. Fungsi epidermis adalah menutrisi epidermis dan menghubungkan ke jaringan subkutan.

2.2.1.3 Subkutan

Jaringan subkutan berperan sebagai pembentukan dan penyimpanan lipid. Fungsi dari lipid subkutan adalah sebagai regulator panas dan *shock absorber*. Jaringan subkutan adalah tempat metabolisme lipid dan terdiri dari syaraf serta pembuluh darah yang menembus dermis. Pada lapisan ini juga terdapat pangkal dasar folikel rambut dan kelenjar keringat.

2.2.2 Fungsi Kulit

2.2.2.1 Proteksi

Kulit melindungi bagian dalam tubuh manusia terhadap gangguan fisik maupun mekanik, misalnya tekanan, gesekan, tarikan, gangguan kimiawi, seperti zat-zat kimia iritan (lisol, karbol, asam atau basa kuat lainnya), gangguan panas atau dingin, gangguan sinar radiasi atau sinar ultraviolet, gangguan jamur, bakteri atau virus (Wasitaatmadja, 2010). Serabut elastis yang terdapat pada dermis serta jaringan lemak subkutan berfungsi mencegah trauma mekanik langsung terhadap interior tubuh. Lapisan tanduk dan mantel lemak kulit menjaga kadar air tubuh dengan cara mencegah penguapan air, selain itu juga berfungsi sebagai barrier terhadap racun dari luar (Tranggono dan Latifah, 2007).

2.2.2.2 Absorpsi

Kemampuan absorpsi kulit dipengaruhi oleh tebal dan tipisnya kulit, hidrasi, kelembaban udara, metabolisme dan jenis vehikulum zat yang menempel di kulit. Penyerapan dapat melalui celah antarsel, saluran kelenjar atau saluran keluar rambut.

2.2.2.3 Ekskresi

Kelenjar-kelenjar pada kulit mengeluarkan zat-zat yang tidak berguna atau sisa metabolisme dalam tubuh misalnya NaCl, urea, asam urat, ammonia dan sedikit lemak. Sebum yang diproduksi kelenjar palit kulit melindungi kulit dengan

cara meminyaki kulit dan menahan penguapan yang berlebihan sehingga kulit tidak menjadi kering.

2.2.2.4 Pengindra (Sensori)

Ujung-ujung saraf sensorik terletak di dermis dan subkutis. Saraf sensorik badan Ruffini yang menerima rangsangan dingin terletak di dermis, badan Krause menerima rangsangan panas.

2.2.3.5 Pengaturan suhu Tubuh (Termoregulasi)

Kulit mengatur suhu tubuh melalui mekanisme dilatasi dan konstiksi pembuluh kapiler dan melalui perspirasi, yang keduanya dipengaruhi saraf otonom. melakukan peran ini dengan cara mengeluarkan keringat dan mengerutkan otot dinding pembuluh darah kulit. Saat suhu tubuh meningkat, terjadi vasodilatasi dan kelenjar keringat mengekresikan banyak keringat ke permukaan kulit, sehingga panas tubuh terbuang bersama dengan penguapan keringat. Vasokonstriksi pembuluh darah kapiler kulit menyebabkan kulit melindungi diri dari kehilangan panas pada waktu dingin (Tranggono & Latifah, 2007; Wasitaatmadja, 1997).

2.2.2.6 Pembentukan Pigmen (Melanogenesis)

Sel pembentuk pigmen kulit (melanosit) terletak di lapisan basal epidermis. Jumlah melanosit serta jumlah dan besarnya melanin yang terbentuk menentukan warna kulit. Selain oleh pigmen, warna kulit dibentuk pula oleh tebal tipisnya kulit, Hb-reduksi, Hb-oksidasi, dan karoten.

2.2.2.7 Keratinisasi

Lapisan epidermis kulit orang dewasa mempunyai tiga jenis sel utama: keratinosit, melanosit dan sel Langerhans. Keratinisasi dimulai dari sel basal mengadakan pembelahan, sel basal yang lain akan berpindah ke atas dan berubah bentuk menjadi sel spinosum, semakin ke atas sel menjadi lebih gepeng, dan bergranula menjadi sel granulosum. Proses tersebut berlangsung terus-menerus seumur hidup. Proses keratinisasi sel dari sel basal sampai sel tanduk berlangsung

sampai 14-21 hari dan memberi perlindungan kulit terhadap infeksi secara mekanis fisiologis.

2.2.2.8 Produksi Vitamin D

Kulit dapat membuat vitamin D dengan mengubah 7-dihidroksi kolesterol dengan bantuan sinar matahari. Namun kebutuhan tubuh akan vitamin D tidak cukup, sehingga perlu vitamin D sistemik. Faktor-faktor yang mempengaruhi absorpsi perkutan adalah sifat fisikokimia obat, sifat pembawa dan kondisi fisiologi kulit. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut (Ansel, 1989):

- a. Konsentrasi obat
- b. Homogenitas campuran obat dan pembawa
- c. Semakin luas area aplikasi, semakin besar absorpsi perkutan
- d. Bahan obat memiliki daya tarik fisiologi yang lebih besar dari pembawa
- e. Derajat kelarutan bahan obat
- f. Fisikokimia pembawa
- g. Hidrasi kulit
- h. Lama aplikasi meningkatkan absorpsi
- i. Waktu kontak obat dengan kulit
- j. Absorpsi lebih besar jika diaplikasikan pada stratum korneum yang tipis daripada stratum korneum yang tebal.

2.3 Absorpsi Obat Melalui Kulit

Sediaan topikal digunakan untuk memberikan efek obat yang terlokalisasi pada tempat penggunaan berdasarkan atas penetrasi obat ke dalam lapisan bawah kulit atau membran mukosa (Lionberger dan Brennan, 2010) dan dapat pula digunakan untuk memperoleh efek sistemik. Efek sistemik suatu obat dapat tercapai melalui sistem penghantaran transdermal.

Keuntungan utama dari pemberian obat secara transdermal adalah dapat menghindari metabolisme lintas pertama dan ditujukan untuk menghindari resiko serta hal-hal yang tidak diinginkan pada terapi secara intravena dan variasi kondisi yang dapat mempengaruhi absorpsi obat per oral seperti perubahan pH,

keberadaan enzim pencernaan, dan waktu pengosongan lambung (Panwar *et al.*, 2011).

Untuk memperoleh efek sistemik suatu obat harus dapat terabsorpsi melalui kulit. Absorpsi obat melintasi kulit dapat terjadi karena adanya proses difusi melalui dua mekanisme (Walters and Jonathan 1993; Lund, 1994), yaitu:

2.3.1 Absorpsi Transepidermal

Lapisan penentu pada kulit yang menunjang absorpsi transepidermal adalah stratum korneum. Jalur absorpsi transepidermal merupakan jalur difusi melalui stratum korneum yang terjadi melalui dua jalur, yaitu jalur transeular yang berarti jalur melalui protein di dalam sel dan melewati daerah yang kaya akan lipid, dan jalur paraselular yang berarti jalur melalui ruang antar sel. Penetrasi transepidermal berlangsung melalui dua tahap. Pertama, pelepasan obat dari pembawa ke stratum korneum, tergantung koefisien partisi obat dalam pembawa dan stratum korneum. Kedua, difusi melalui epidermis dan dermis dibantu oleh aliran pembuluh darah dalam lapisan dermis.

2.3.2 Absorpsi Transappendageal

Jalur absorpsi transappendageal merupakan jalur masuknya obat melalui folikel rambut dan kelenjar keringat disebabkan karena adanya pori-pori di antaranya, sehingga memungkinkan obat berpenetrasi. Penetrasi obat melalui jalur transepidermal lebih baik daripada jalur transappendageal, karena luas permukaan pada jalur transappendageal lebih kecil. Meskipun beberapa bahan lain pun dapat terabsorpsi melalui rute topikal, namun konsentrasinya kecil dan tidak menimbulkan efek terapi yang bermakna (Khullar, Kumar, Seth dan Saini., 2012).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi absorpsi obat melalui kulit yaitu (Panwar, *et. al.*, 2011):

- a. Faktor fisiologi, seperti ketebalan kulit, jumlah lemak, kerapatan folikel rambut dan kelenjar keringat, suhu tubuh, pH kulit, aliran darah, hidrasi kulit, dan inflamasi pada kulit.

- b. Faktor fisikokimia obat, seperti koefisien partisi, berat molekul (< 400 dalton), dan derajat ionisasi obat (hanya obat yang tidak terionisasi yang dapat diabsorpsi dengan baik).
- c. Faktor formulasi, seperti pH sediaan, profil pelepasan obat dari pembawa, pembawa yang dapat meningkatkan kelembaban kulit, dan penggunaan bahan-bahan peningkat penetrasi percutan seperti urea, dimetilsulfoksida, etanol dll.

2.4 Penuaan Kulit

2.4.1 Gambaran Penuaan Kulit secara umum

Proses penuaan merupakan proses fisiologis yang akan terjadi pada semua makhluk hidup yang meliputi seluruh organ tubuh termasuk kulit. Setiap manusia akan mengalami proses penuaan secara perlahan-lahan dan kulit merupakan salah satu jaringan tubuh yang secara langsung memperlihatkan terjadinya proses penuaan (Wasitaatmadja, 2007).

Kulit yang menua seringkali menjadi kering, disebabkan berkurangnya kadar air di dalam lapisan atas kulit dan menurunnya fungsi kelenjar minyak (kelenjar sebacea) dan kelenjar keringat. Permukaan kulit yang kasar dan kusam terjadi, karena berkurangnya kemampuan kulit melepas sel kulit mati untuk diganti sel kulit baru dan adanya kecenderungan sel-sel kulit mati saling melekat di permukaan kulit. Kulit menjadi kendur, timbul kerutan dan lipatan kulit yang nyata. Hal tersebut diakibatkan karena serabut kolagen dan serabut elastin (menjaga kelenturan kulit) berubah menjadi kaku/tidak lentur, sehingga kulit kehilangan daya elatisitas. Tulang dan otot mengalami atrofi, jaringan lemak subkutan berkurang disertai lapisan kulit yang tipis, menyokong terbentuknya kerutan-kerutan dan lipatan/lipatan/alur kulit yang nyata. Kontraksi otot-otot mimik yang tidak diikuti oleh kontraksi kulit yang sesuai mengakibatkan alur-alur keriput, terutama di sekitar mulut, mata dan dahi (Jusuf, 2005). Kecepatan metabolisme sel basal menurun dan proses keratinisasi melambat, sehingga regenerasi sel-sel epidermis menjadi lambat. Perubahan struktur sel korneosit menjadi lebih pendek dan memiliki celah menyebabkan peningkatan

Transepidermal Water Loss (TEWL) dan fungsi barrier kulit menjadi terganggu, sehingga kulit lebih kering dan mudah teriritasi (Tranggono dan Latifah, 2007).

Proses penuaan kulit digolongkan menjadi proses penuaan intrinsik (*intrinsic aging/chronologic aging*) dan proses penuaan ekstrinsik (*extrinsic aging/photoaging*). Proses penuaan intrinsik merupakan proses penuaan fisiologis yang berlangsung secara alamiah, disebabkan berbagai faktor dari dalam tubuh sendiri, seperti genetik, hormon dan ras. Fenomena tersebut dapat menyebabkan perubahan kulit yang menyeluruh sesuai dengan penambahan usia. Proses penuaan ekstrinsik terjadi akibat berbagai faktor dari luar tubuh. Faktor lingkungan seperti kelembapan udara, suhu, terutama sinar matahari, dapat mempercepat proses penuaan kulit sehingga terjadi penuaan dini. Perubahan pada kulit terjadi di daerah terpajan seperti kulit wajah, sehingga wajah terlihat lebih tua, tidak sesuai dengan usia yang sebenarnya (Jusuf, 2005).

2.4.2 Penuaan Intrinsik

Penuaan kulit intrinsik ditandai dengan kulit menjadi kering, kaku (kurang kenyal), tumbuhnya *seborrheic keratoses* dan *angioma*, tetapi tidak disertai dengan penambahan pigmentasi atau kerutan yang dalam. Gambaran mikroskopik pada kulit yang menua secara intrinsik yaitu epidermis mengalami atrofi dengan bagian jembatan *dermal-epidermal* yang semakin rata (seharusnya berkelok-kelok pada kondisi normal) dan kehilangan *rete peg*/tonjolan dermis ke lapisan epidermis. Dermis juga menjadi menipis dengan penurunan jumlah fibroblas dan penurunan tingkat kolagen (Helfrich *et al.*, 2010).

Kolagen menyusun hampir 90% dari seluruh total protein kulit dan memegang peranan penting dalam kekuatan/kekencangan kulit. Fibroblas dermis membuat molekul prekursor yang disebut prokolagen, yang dikonversi menjadi kolagen. Dua pengatur produksi kolagen yang penting yaitu *transforming growth factor* TGF- β dan *activator protein* (AP)-1. TGF- β merupakan sitokin yang memicu pembentukan kolagen. AP-1 merupakan faktor transkripsi yang memicu pemecahan kolagen dengan mengatur peningkatan jumlah enzim matriks metaloproteinase (MMP) (Helfrich *et al.*, 2008).

Penuaan intrinsik diperkirakan sebagai hasil dari kombinasi berbagai faktor. Jumlah AP-1 akan bertambah pada kulit yang telah berumur bila dibandingkan dengan kulit pada orang muda. Aktivitas enzim MMP meningkat pada kulit menua, dan dikaitkan dengan semakin banyak kolagen yang terdegradasi. Sintesis prokolagen tipe I dan III berkurang seiring dengan bertambahnya usia manusia. Kombinasi peningkatan pecahnya kolagen dan penurunan sintesis kolagen baru menghasilkan penurunan level kolagen pada dermis.

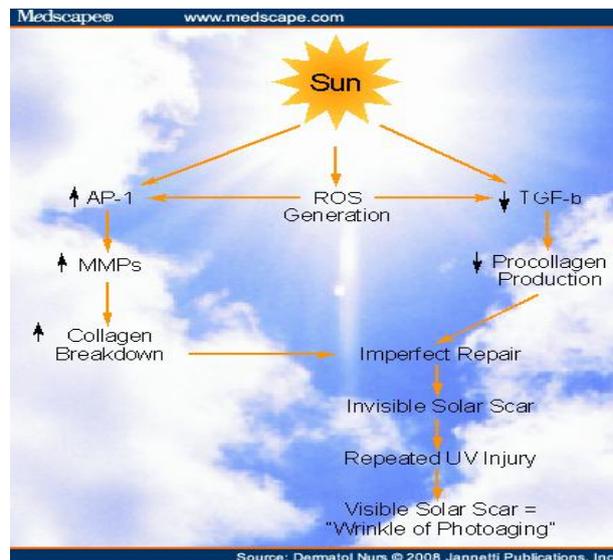
Pembentukan ROS dipercaya berperan penting pada penuaan intrinsik. Teori radikal bebas menjelaskan bahwa penuaan adalah hasil akumulasi kerusakan oksidatif sepanjang hidup akibat kelebihan ROS yang diperoleh dari metabolisme aerobik. Pembentukan ROS meningkat seiring dengan bertambahnya usia (Hensley & Floyd, 2002).

2.4.3 Penuaan Ekstrinsik

Gejala klinis penuaan ekstrinsik, antara lain kekeringan, pigmen yang lebih terang (hipopigmentasi) / lebih gelap (hiperpigmentasi), telangiectasi, kerutan yang dalam, kekeringan, kulit terasa dangkal, kulit mudah tergores, atrofi kulit, kulit kaku/kurang kenyal kasar, elastosis (menimbulkan efek *cobblestoned* yang kuning dan kasar pada kulit) dan *actinic purpura* (kulit mudah memar akibat kerapuhan dinding pembuluh darah di dermis). Gambaran penuaan ekstrinsik/*fotoaging* secara mikroskopis, yaitu kulit mengalami atrofi epidermal dan terdapat akumulasi *elastin-containing material* tepat di bawah *dermal-epidermal junction* yang disebut *solar elastosis* dan kolagen menjadi tersusun tidak teratur (Helfrich *et al.*, 2008).

Saat kulit terekspos terhadap sinar matahari, radiasi UV diabsorpsi oleh molekul kulit yang dapat membentuk senyawa berbahaya *reactive oxygen species* (ROS). Radiasi UV dapat memicu pembentukan ROS dan menginduksi AP-1, sehingga produksi enzim MMP meningkat dan mengakibatkan terjadinya pemecahan kolagen. Radiasi UV juga memicu penurunan ekspresi TGF- β . TGF- β memicu pembentukan kolagen, sehingga penurunan ekspresi TGF- β

menyebabkan penurunan produksi kolagen. Radiasi UV yang diabsorpsi oleh molekul kulit membentuk ROS yang menyebabkan kerusakan oksidatif komponen seluler seperti dinding, membran lipid, mitokondria, dan DNA. Radiasi UV juga menginduksi respon luka dengan perbaikan yang tidak sempurna, meninggalkan bekas luka yang disebut sebagai "*solar scar*" yang tampak sebagai kerutan yang dalam (Gambar 2.1.) (Helfrich *et al.*, 2008).



Gambar 2.1 Alur Radiasi Ultraviolet Pada Kulit. Radiasi ultraviolet terus-menerus dan perlukaan membentuk akumulasi dari kerusakan, bermanifestasi sebagai *visible solar scar*, atau kerutan *photoaging* (Helfrich, Sachs, & Voorhees, 2008).

2.4.4 Kosmetik Untuk Perbaikan Kulit Menua

Kosmetik yang banyak digunakan untuk memperbaiki kulit yang menua mencakup: kosmetik yang digunakan untuk mencegah kerusakan akibat radiasi sinar UV dan kosmetik untuk memperbaiki kerusakan yang telah terjadi. Kandungan-kandungan tertentu yang dipergunakan untuk mencegah kerusakan akibat radiasi UV antara lain antioksidan. Antioksidan mampu mengurangi kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh ROS (Helfrich *et al.*, 2008). *Reactive Oxidative Species* adalah molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron tersebut sangat reaktif dan cepat bereaksi dengan molekul lain sehingga terbentuk radikal bebas baru dalam jumlah besar secara terus-menerus. Radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan

kulit dan menyebabkan keriput dan penuaan. Untuk mencegah kerusakan sel pada organ kulit, diperlukan antioksidan yang berfungsi untuk menetralkan radikal bebas (Percival, 1998).

Pada kulit menua terjadi peningkatan kadar kalsium, penurunan kadar sulfur, penurunan kadar kolesterol (pada anak-anak kadar kolesterol sebesar 500 mg per 100 g kulit, sementara pada orang tua tinggal 365 mg), defisiensi banyak vitamin (vitamin C, biotin, vitamin K, asam panthotemat, piridoksin, asam nikotinat, *citrus bioflavonoid*, dan lain-lain). Kekurangan vitamin K menyebabkan pembuluh darah kulit pecah sehingga terlihat seperti sarang laba-laba (*talangiectasia*). Untuk memperlambat proses penuaan kulit tersebut, defisiensi vitamin perlu dicegah atau diperbaiki dengan menggunakan produk kosmetik (Tranggono & Latifah, 2007).

2.5 Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri (Touchstone dan Dobbins, 1983; Harmita, 2006)

2.5.1 Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah metode pemisahan suatu campuran menjadi komponen masing-masing. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada penjerapan, partisi (pembagian) atau gabungan keduanya. Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk analisis yang cepat terhadap komposisi campuran baik kualitatif maupun kuantitatif. KLT biasa digunakan untuk menentukan kondisi percobaan dari kromatografi kolom. Selain itu KLT dapat digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi suatu komponen dalam campuran obat, ekstrak tanaman, preparat biokimia, serta mendeteksi kontaminan dan pemalsuan.

Beberapa keuntungan dari metode KLT, yaitu mudah digunakan, aplikasinya luas untuk sampel yang bermacam-macam, sensitivitas tinggi, proses pemisahan cepat, relatif murah, menggunakan sedikit pelarut, dapat memisahkan sampel dalam jumlah total yang banyak, peralatan yang digunakan sederhana, dan jumlah zat yang diperiksa cukup kecil (kira-kira 0,01 gram senyawa murni

dan 0,1 gram untuk simplisia). Kekurangan dari metode ini, yaitu memerlukan waktu tambahan untuk persiapan lempeng, kecuali lempeng telah tersedia.

2.5.2 Fase Diam

Fase diam yang digunakan pada kromatografi lapis tipis ialah butir penjerap atau pendukung dilapiskan pada lempeng kaca, logam dan lainnya. Ukuran standar lempeng KLT, yaitu 20 x 20 cm. Fase diam yang digunakan biasanya terbuat dari butiran matriks halus silika gel, magnesium silikat, aluminium oksida, dan selulosa. Sebelum digunakan, lempeng KLT harus diaktivasi terlebih dahulu. Umumnya suhu yang digunakan adalah 120°C selama 30 menit.

2.5.3 Fase Gerak

Pemisahan terjadi dengan melewati fase gerak (pelarut) melintasi lapisan. Fase gerak yang digunakan dapat terdiri dari beberapa campuran pelarut yang disesuaikan dengan polaritas zat yang akan dipisahkan. Selain itu, perlu diperhatikan bahwa pelarut harus mudah menguap dan tidak meninggalkan sisa agar tidak mengganggu pengamatan bercak. Senyawa alkohol, fenol-fenol, asam-asam, hidrokarbon atau campurannya dapat digunakan sebagai fase gerak yang dapat memisahkan bercak dengan sempurna.

Fase gerak dapat bergerak melewati medium berkat adanya aksi kapiler, proses ini disebut dengan pengembangan. Semakin banyak informasi mengenai sampel, semakin mudah dalam menentukan fase gerak dan adsorben yang akan digunakan untuk pemisahan. Pemisahan berdasarkan koefisien distribusi senyawa terhadap fase diam dan fase gerak. Setelah terpisah masing-masing bercak dihitung nilai faktor retardasinya (R_f). R_f adalah jarak bercak sampel dibagi dengan jarak rambat eluen.

2.5.4 Pengamatan Bercak

Bercak pada lempeng KLT dapat diamati dengan sinar ultraviolet langsung atau dengan pereaksi kimia tertentu. Pereaksi yang digunakan tidak boleh merusak senyawa yang akan ditampakkan. Pereaksi penampak digunakan

dengan cara menyemprotkannya pada lempeng atau mencelupkan lempeng ke dalam pereaksi. Pencelupan umumnya dilakukan untuk mendapatkan hasil sensitif pada proses analisis kuantitatif menggunakan *TLC scanner*. Larutan penampak bercak harus tersebar dalam bentuk kabutan halus dan merata. Pereaksi yang umumnya digunakan adalah uap iodium, asam sulfat pekat dan campuran asam sulfat pekat dengan kalium bikromat atau dengan asam nitrat (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

2.5.5 Analisis Bercak menggunakan metode KLT Densitometri

Hasil pengembangan dan bercak yang telah ditampakkan dapat dianalisis secara kuantitatif menggunakan beberapa metode, yaitu gravimetri, spektrometri, atau dengan alat *TLC scanner* (KLT densitometer). Densitometri merupakan pengukuran sifat-sifat absorb atau fluoresensi suatu zat langsung pada kromatogram lapisan tipis menggunakan alat dengan sumber cahaya tunggal atau ganda, baik berdasarkan cahaya yang ditransmisikan maupun yang direfleksikan oleh bercak pada lempeng.

Cara ini banyak digunakan dalam analisis farmasi, karena sensitif dan dapat diproduksi kembali. Secara mendasar, sistem optik dari keseluruhan instrument KLT Densitometri terdiri dari sumber cahaya, sistem pemfokus, dan kondensasi, serta sebuah detektor cahaya. Prinsip pengukuran dengan densitometri, yaitu dengan penembakan sinar monokromatis dan biasanya dikonstruksikan untuk membaca hasil KLT dengan mode transmisi. Sumber cahaya dapat berada di atas ataupun di bawah lapisan tipis, dengan fotosensor pada sisi lawannya untuk transmisi atau pada sisi yang sama dari pantulannya. Sumber cahaya dapat berupa hidrogen, merkuri, merkuri-xenon bertekanan tinggi, lampu xenon untuk sinar ultraviolet atau sebuah lampu pijar untuk cahaya tampak.

2.6 Liposom

Liposom adalah vesikel mikroskopik yang tersusun dari satu atau lebih cangkang enkapsulasi lipid sferis lapis ganda. Lapisan ganda terbentuk dari lipid seperti kolesterol dan lesitin. Lesitin memiliki bagian molekul hidrofilik dan hidrofobik yang memiliki kelarutan berbeda dan secara spontan membentuk

lapisan tunggal atau ganda, yang akan membentuk vesikel tertutup dengan adanya larutan air. Ukuran liposom berkisar dari 0,025 μm hingga lebih dari 5 μm . Liposom dapat berupa unilamellar (sebuah bilayer yang mengelilingi inti cairan) atau multilamellar (beberapa bilayer berorientasi secara konsentris mengelilingi inti cairan). Pilihan bahan bilayer menentukan fluiditas dan muatan bilayer. Pemberian lipid bermuatan positif atau negatif menjadikan permukaan liposom memiliki muatan. Kemampuan liposom untuk menjerap dan mempertahankan obat secara luas serta fleksibilitas struktur adalah elemen utama untuk mengontrol aksi obat. Efektivitas penjerapan dapat ditunjukkan dari volume enkapsulasi larutan air dalam lipid. Kemampuan liposom untuk menjerap obat tergantung pada sifat fisikokimia obat, komposisi liposom, muatan dan lingkungan air. Bekerja sebagai pembawa lepas lambat, liposom dapat memperpanjang durasi paparan obat. Liposom juga dapat melindungi obat dari proses degradasi dan melindungi pasien terhadap efek samping dari obat yang dienkapsulasi. Liposom dapat mensolubilisasi senyawa lipofilik (Krowczynski, 1987; Crommelin *et al.*, 2003).

2.6.1 Klasifikasi Liposom

Secara umum liposom dibagi menjadi tiga berdasarkan ukuran dan banyaknya membran lipid ganda, yaitu:

2.6.1.1 Liposom multilamellar (*Multilamellar Vesicle/MLV*)

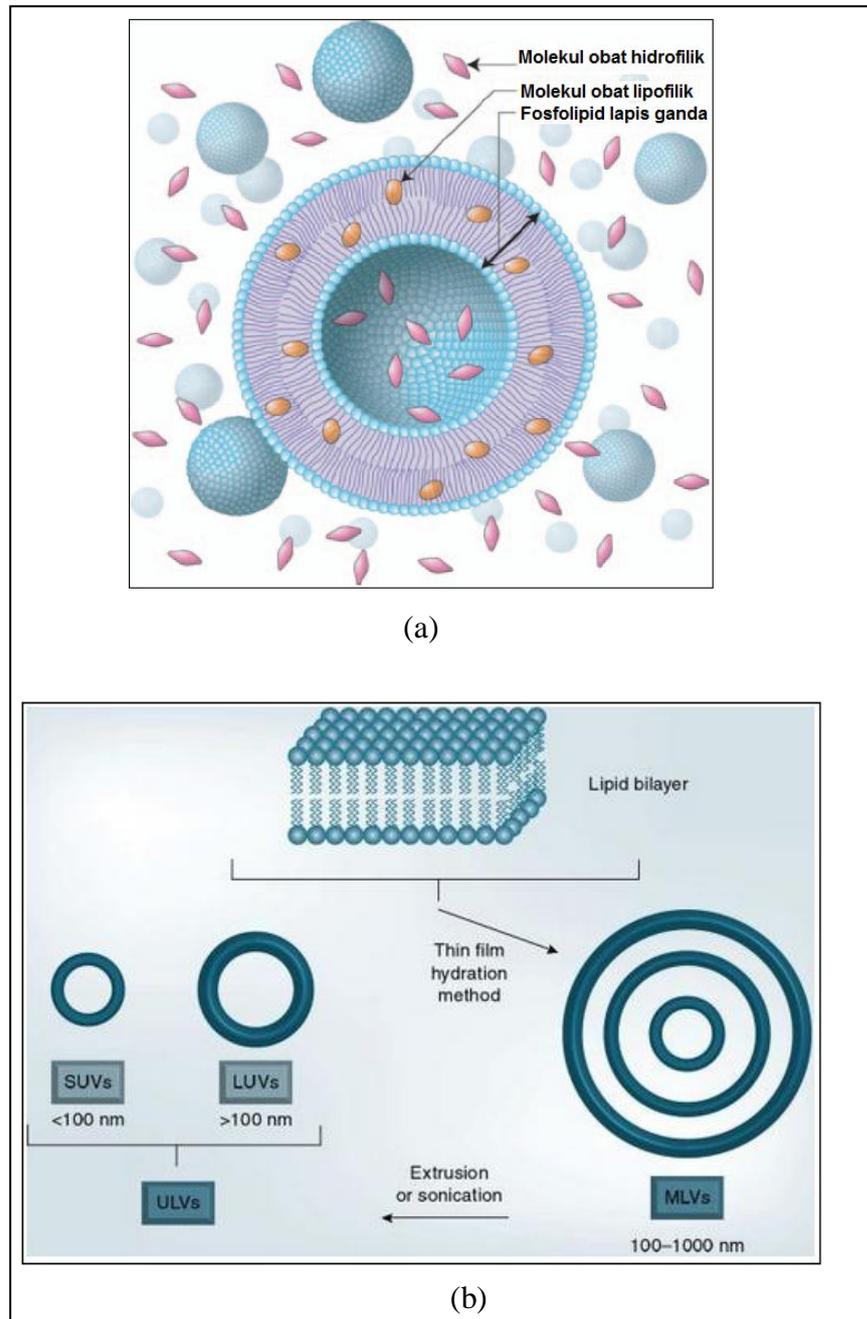
Liposom multilamellar terdiri dari beberapa lapisan lipid bilayer konsentris dengan ukuran sekitar 200 nm sampai beberapa mikron (Swarbrick, 2007). Liposom multilamellar tersusun dari banyak lapisan lipid dan kompartemen jerapan air (Gregoriadis, 1986).

2.6.1.2 Liposom unilamellar kecil (*Small Unilamellar Vesicle/SUV*)

Liposom unilamellar kecil berukuran sekitar 25-70 nm dan terdiri dari lapisan bilayer tunggal (Swarbrick, 2007).

2.6.1.3 Liposom unilamellar besar (*Large Unilamellar Vesicle/LUV*)

Liposom unilamellar besar terdiri dari membran lipid bilayer tunggal, ukurannya berkisar 100-400 nm lebih (Swarbrick, 2007).



[Sumber: Hupfeld *et al.*, 2006; Medscape, 2010]

Gambar 2.2. (a) Liposom unilamellar kecil. (b) Jenis liposom

2.6.2 Metode Preparasi Liposom (Pathak dan Thassu, 2009)

2.6.2.1 Metode Hidrasi Lapis Tipis

Campuran lipid dilarutkan dalam pelarut organik seperti metanol atau kloroform. Pelarut organik dihilangkan dibawah tekanan rendah dan liofilisasi. Lipid lapis tipis diredispersi dalam medium berair. Banyaknya lapisan dan ukuran vesikel dapat dikurangi dengan proses sonikasi atau ekstruksi untuk menghasilkan dispersi yang homogen.

2.6.2.2 Evaporasi Fase Terbalik (*Reverse-Phase Evaporation*)

Emulsi air dalam minyak dipersiapkan dengan melarutkan fosfolipid dalam fase organik. Fase organik kemudian dihilangkan secara perlahan dibawah tekanan rendah. Terbentuk vesikel unilamellar besar dengan inti penjerapan berair.

2.6.2.3 Metode Injeksi Eter

Lipid dilarutkan dalam eter dan diinjeksikan ke medium berair dengan kecepatan sangat rendah. Vesikel besar terbentuk dan dihilangkan dengan filtrasi.

2.6.3 Karakterisasi dan Evaluasi Liposom

Dilakukan karakterisasi dan evaluasi-evaluasi terhadap liposom tepat setelah proses tahapan pembuatan liposom selesai yang meliputi:

2.6.3.1 Morfologi (Bentuk Fisik)

Evaluasi morfologi meliputi evaluasi fisik terhadap liposom yang terbentuk, antara lain evaluasi terhadap ukuran dan tebal liposom yang terbentuk. Alat yang digunakan adalah mikroskop elektron yaitu *Scanning Electron Microscopy* (SEM) ataupun *Transmission Electron Microscopy* (TEM). SEM digunakan untuk mengukur ukuran liposom yang mikroskopik, sedangkan TEM digunakan untuk menganalisa liposom secara tiga dimensi sehingga dapat mengukur ketebalan yang terbentuk.

a. SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

Terkadang liposom memiliki ukuran yang cukup besar untuk dilihat dengan menggunakan mikroskop biasa (diameter 1-10 μm). Namun karena keterbatasan ukuran yang dapat dilihat oleh mikroskop optik biasa, maka mikroskop elektron berperan penting dalam menampilkan ukuran dan bentuk nanopartikel yang tidak dapat terlihat dengan mikroskop optik biasa. Tidak semua liposom dapat dilihat dengan menggunakan SEM secara langsung, liposom mungkin tidak cukup memiliki agen pengkontras, sehingga penambahan agen pengkontras dari luar (biasanya emas) perlu dilakukan (Boylard dan Swarbrick, 1994).

b. TEM (*Transmission Electron Microscopy*)

Mirip dengan SEM, TEM (*Transmission Electron Microscopy*) merupakan suatu metode untuk mengevaluasi ukuran dan morfologi nanopartikel. Tomografi TEM memiliki resolusi yang lebih besar daripada SEM dan gambar yang dihasilkan dapat diperbesar lebih banyak daripada gambar yang dihasilkan oleh SEM (Boylard dan Swarbrick, 1994).

2.6.3.2 Distribusi Ukuran Partikel

Distribusi ukuran partikel diukur dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* berupa *Laser Light Scattering* atau *Coulter Counter*. Mekanisme dalam metode *Laser Light Scattering* adalah difraksi cahaya, difusi cahaya, atau keduanya. Metode ini lebih sederhana dan sangat efisien. Rentang ukuran partikel yang diukur cukup luas yaitu antara 10 nm–1 mm. Sedangkan, pada metode *Coulter Counter*, mekanisme yang terjadi adalah adanya tahanan elektrik saat dispersi partikel melewati dua elektroda. Ketika kepadatan partikel dispersi cukup, setiap pulsa tegangan akan berinteraksi dengan setiap partikel sehingga distribusi ukuran partikel dapat diperkirakan (Swarbrick, 2007).

2.6.3.3 Daya Jerap Obat

Untuk mendapatkan efektivitas penjerapan dari liposom yang terbentuk, biasanya sebelumnya dilakukan proses pemisahan obat yang terjerap dan obat yang tidak terjerap di dalam liposom, yaitu (Gregoriadis, 1986).

a. Ultrasentrifugasi

Sentrifugasi di berbagai variasi kecepatan putaran per menit dapat memurnikan liposom secara efektif dari molekul zat aktif yang tak terikat di dalam medium suspensi. Dua atau lebih resuspensi dan sentrifugasi biasanya menghasilkan pemurnian yang komplit. Gaya sentrifugal mendorong liposom turun ke bawah terkait dengan ukuran partikelnya menjadi bentuk terflokulasi pada dispersinya. Liposom yang berukuran kecil sampai medium, perlu diperhatikan kondisi pendinginan yang diperlukan dan dibutuhkan kecepatan putaran yang relatif tinggi. Liposom ukuran medium hingga besar memerlukan kecepatan putaran relatif lebih rendah, yaitu 2000-4000 rpm. Metode tersebut tidak disarankan untuk liposom yang berukuran kecil, karena memerlukan kecepatan putaran yang tinggi, yang memerlukan energi dan biaya yang lebih mahal.

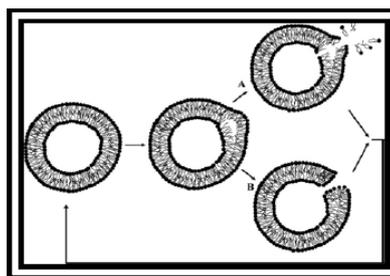
b. Dialisis

Dialisis merupakan cara yang paling sederhana dan paling banyak digunakan secara umum, kecuali untuk senyawa makromolekuler. Teknik ini tidak kompleks, tidak membutuhkan peralatan yang mahal dan bisa untuk skala besar. Meskipun prosesnya lambat, dibutuhkan waktu sekitar 10-24 jam dengan penggantian minimum sebanyak 3 kali dari medium eksternalnya, namun efektif untuk pemisahan obat yang tidak terjerap. Evaluasi daya jerap obat dilakukan dengan menghitung zat aktif yang terdialisis.

2.6.4 Pengaturan Ukuran

2.6.4.1 Ultrasonikasi

Ultrasonik menghasilkan *small unilamellar liposom*, dengan ukuran minimal 20 nm. Mekanisme pecahnya liposom oleh ultrasonikasi adalah terbentuknya gas-gas kecil sementara di dalam bagian hidrofobik dari *lipid bilayer*. Adanya gas-gas tersebut dapat memecah fragmen membran dari liposom dan membentuk agregat yang lebih kecil (Boylard dan Swarbrick, 1994).



[Sumber: Boyland dan Swarbrick, 1994.]

Gambar 2.3 Mekanisme Pecahnya Liposom oleh Ultrasonikasi.

2.6.4.2 Ekstruksi

Metode ekstrusi dapat terbagi menjadi ekstrusi bertekanan tinggi dan ekstrusi bertekanan rendah. Ekstrusi bertekanan tinggi menggunakan tekanan diatas 35 MPa, menghasilkan vesikel yang berukuran kecil dan sebagian besar *unilamellar*. Sedangkan, pada ekstrusi bertekanan rendah, tekanan yang digunakan hingga 14 MPa, dan ukuran dan distribusi ukuran yang dihasilkan bergantung pada pori membran yang digunakan. Jenis-jenis membran yang dapat digunakan adalah polikarbonat, keramik, dan *stainless steel*.

2.6.4.3 Metode Ekstruksi Freeze-Thaw

Liposom dibentuk menjadi lapisan tipis yang kemudian zat yang akan dienkapsulasi diaduk dengan vortex sampai semua lapisan tipis tersuspensidan menghasilkan liposom tipe MLV yang dibekukan dengan menggunakan *dry ice* atau aseton, dicairkan dengan menggunakan air suhu hangat dandiaduk dengan vortex kembali. Hal tersebut diulangi sampai dua kali kemudian sampel diekstruksi tiga kali. Liposom yang dihasilkan adalah *large unilamellar vesicles*

by *extrusion technique* (LUVET) dan kadar zat yang terjerap lebih besar. Protein dapat dienkapsulasi dengan menggunakan teknik ini (Sou, 2003).

2.6.4.4 Metode Dehidrasi-Rehidrasi

Metode ini dimulai dari liposom SUV (liposom tipe MLV dapat juga digunakan) dalam dapar fosfat dicampur dengan zat yang akan dijerap, kemudian dikeringkan dengan *freeze drying*. Pada dehidrasi didapatkan vesikel yang lebih terkonsentrasi dan dihasilkan liposom tipe *multilamellar*. Selama proses hidrasi terbentuk vesikel ukuran besar. Teknik menghasilkan ukuran liposom yang heterogen (Kirby dan Gregoriadis, 1984).

2.6.5 Stabilitas Liposom

Stabilitas liposom harus diperhatikan dalam pengembangan formula yang menggunakan liposom. Liposom dapat menjadi tidak stabil karena penguraian fisika dan kimia. Kehilangan kadar obat yang dienkapsulasi dan liposom yang teragregasi termasuk dalam ketidakstabilan fisika. Ketidakstabilan kimia disebabkan reaksi peroksidasi pada fosfolipid dan sterol sedangkan reaksi hidrolisis yang terjadi pada fosfolipid. Dalam stabilitas kimianya, integritas kimia fosfolipid sebagai konstituen utama dapat dipengaruhi oleh reaksi hidrolisis dan peroksidasi. Reaksi hidrolisis pada ikatan ester dapat menguraikan fosfatidilkolin menjadi 2-lisofosfatidilkolin dan asam lemak bebas. Suhu, rigiditas lapis ganda, dan pH adalah parameter yang mempengaruhi kinetika hidrolisis dari fosfatidilkolin (Boylard dan Swarbrick, 1994).

Reaksi peroksidasi terjadi pada ikatan jenuh pada rantai asil fosfolipid yang diinduksi oleh autooksidasi atau fotooksidasi. Reaksi peroksidasi dapat dihindarkan dengan pemilihan lipid yang memiliki ikatan tidak jenuh, penyimpanan dalam keadaan vakum dengan menggunakan gas inert yang dialirkan ke liposom, penyimpanan dalam keadaan gelap untuk mencegah fotooksidasi, menghindari aktivasi dari logam berat dan zat pengkelat, dan penambahan antioksidan seperti α -tokoferol, butilhidroksitoluen, butilhidroksianisol, dan lain-lain. Permasalahan yang terjadi karena reaksi

hidrolisis dan reaksi peroksidasi dapat diatasi dengan menggunakan formula liposom yang dibeku keringkan (Boyland dan Swarbrick, 1994).

Pada stabilitas fisika, liposom dapat teragregasi tergantung dari konstituen lapis ganda, ukuran partikel, kekuatan ionik, dan suhu. Penambahan fosfatidilgliserol atau kolesterol hemisuksinat umumnya dapat menstabilkan liposom (Boyland dan Swarbrick, 1994).

2.6.6 Bahan Dasar Pembentuk Liposom

Lipid penyusun liposom dapat berupa fosfolipid dan lipid golongan sterol seperti kolesterol. Berdasarkan bahan penyusunnya, fosfolipid sebagai bahan utama penyusun liposom diklasifikasikan menjadi empat kelompok, yaitu fosfolipid alam, fosfolipid alam termodifikasi, fosfatidilkolin dan kolesterol (Boyland dan Swarbrick, 1994):

2.6.6.1 Fosfolipid Alam

Fosfolipid alam didapat dari telur atau kedelai. Contoh dari fosfolipid alam adalah fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, sfingomielin (hanya berasal dari telur), fosfatidilinositol (hanya berasal dari kedelai). Fosfolipid yang berasal dari telur (fosfolipid hewan) memiliki rantai asil jenuh pada posisi 1 dan rantai asil tidak jenuh pada posisi 2. Fosfolipid tumbuhan memiliki rantai asil tidak jenuh pada posisi 1 dan 2, dengan asam linoleat sebagai komponen asil utama.

2.6.6.2 Fosfolipid Alam Termodifikasi

Fosfolipid alam dimodifikasi sebagian secara kimia, dengan cara hidrogenasi, untuk menurunkan derajat ketidakjenuhan fosfolipid. Hal tersebut dapat meningkatkan resistensinya terhadap peroksidasi. Selain hidrogenasi, modifikasi juga dapat dilakukan pada bagian polar pada fosfolipid dengan menggunakan enzim fosfolipase. Contoh dari modifikasi tersebut adalah fosfatidilgliserol yang mengalami transfosfatidilasi menjadi fosfatidilgliserol fosfolipase D.

2.6.6.3 Fosfolipid Semisintetik

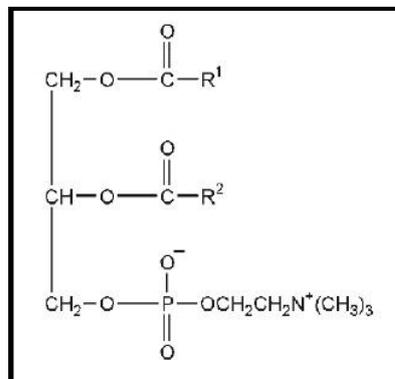
Fosfolipid semisintetik diperoleh dengan mengganti rantai alkil dari fosfolipid alam secara kimiawi.

2.6.6.4 Fosfolipid Sintetik

Fosfolipid sintetik diperoleh dengan cara reaksi kimiawi.

2.6.6.5 Fosfatidilkolin

Fosfolipid adalah molekul amfifilik komponen utama membran sel. Karena bersifat amfifilik, sehingga fosfolipid dapat mengasosiasikan senyawa hidrofilik dan hidrofobik. Fosfolipid dapat membentuk berbagai struktur misalnya misel dan liposom dengan ukuran yang variatif. Fosfolipid dapat bersifat anionik, kationik dan netral (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

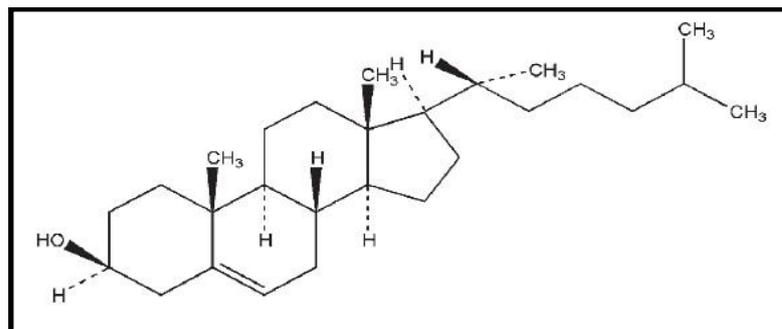


[Sumber : Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009]

Gambar 2.4 Rumus Kimia Fosfatidilkolin

2.6.6.6 Kolesterol

Kolesterol merupakan eksipien non-toksik dan non-iritan yang diperoleh dari organ hewan dan berisi kolestanol dan sterol jenuh lainnya (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).



[Sumber : Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009]

Gambar 2.5 Rumus Kimia Kolesterol

2.7 Kosmetik

Definisi kosmetik menurut Kemenkes No. 445/Menkes/Permenkes/1998 adalah sediaan atau paduan bahan yang siap digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ kelamin bagian luar), gigi, dan rongga mulut untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit. Pada tahun 1955, Lubowe menciptakan istilah *Cosmedics* sebagai gabungan dari kosmetik dan obat yang sifatnya dapat mempengaruhi faal kulit secara positif tetapi bukan obat, dan menyusul pada tahun 1982, Faust mengemukakan istilah *medicated cosmetics*, yakni semacam kosmetik yang juga bermanfaat untuk memperbaiki dan mempertahankan kesehatan kulit, seperti preparat anti ketombe, deodoran, preparat antiperspiran, preparat untuk mempengaruhi warna kulit, dan preparat antijerawat. Tujuan utama penggunaan kosmetik pada masyarakat modern adalah untuk kebersihan pribadi, meningkatkan daya tarik melalui *make-up*, meningkatkan rasa percaya diri dan perasaan tenang, melindungi kulit dan rambut dari kerusakan sinar ultra violet, polusi dan faktor lingkungan yang lain, mencegah penuaan, dan secara umum membantu seseorang lebih menikmati dan menghargai hidup (Tranggono & Latifah, 2007).

Sementara kosmetika hipoalergik adalah kosmetika yang di dalamnya tidak mengandung zat-zat yang dapat menyebabkan reaksi iritasi dan sensitasi. Kosmetika jenis ini merupakan kosmetika yang lebih aman untuk kesehatan kulit. Banyak bahan-bahan yang sering menimbulkan reaksi iritasi dan sensitasi telah

dikeluarkan dari daftar kosmetika hipoalergik seperti komponen yang mengandung arsen, aluminium sulfat, aluminium klorida, balsam peru, fenol, formaldehid, gom arab, lanolin, merkuri, parafenilenediamin, minyak bergamot, minyak lavender, asam salisilat, resoisinol, heksaklorofen dan lain-lain (Tranggono & Latifah, 2007).

2.8 Krim

Berdasarkan Farmakope Indonesia IV, krim adalah bentuk sediaan setengah padat, mengandung satu atau lebih bahan terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Krim mempunyai konsistensi relatif cair, diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Secara teknis, krim termasuk emulsi. Emulsi ialah sistem heterogen dengan disperse tetesan suatu cairan dalam cairan lain. Krim yang paling sederhana ialah campuran air dan bahan yang tak larut dalam air, menjadi kompatibel bila ditambahkan surfaktan. Surfaktan merupakan molekul-molekul yang memiliki bagian yang larut dalam air dan bagian yang larut dalam minyak (Depkes, 1995).

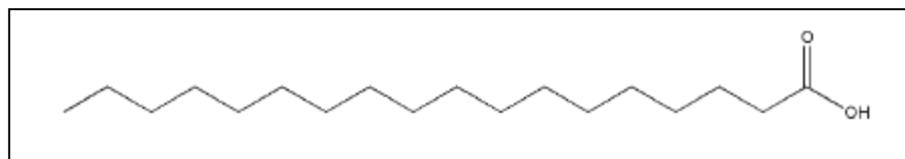
Pemanasan diperlukan dalam proses pembuatan krim, karena banyak bahan lipofilik berbentuk padat pada suhu ruangan dan bahan lipofilik dapat dicampur dengan baik hanya dengan pemanasan di atas titik leleh. Sistem heterogen dengan dispersi tetesan cairan satu dalam cairan lain dengan ukuran $> 0,1\mu$. Kedua cairan tidak bercampur, tidak bereaksi, akan membentuk sistem yang secara termodinamika tidak stabil. Bahan yang terdispersi sebagai globul/droplet: fase internal, fase terdispers, fase diskontinu.

2.8.1 Bahan Krim

Bahan-bahan yang biasanya digunakan pada sediaan krim mencakup zat emolien, zat sawar (*barier*), zat penutup untuk kulit yang berpori lebar, zat humektan, zat pengental dan pembentuk lapisan tipis, zat pengemulsi, zat pengawet, parfum dan zat warna (Ditjen POM, 1985).

2.8.1.1 Asam stearat

Asam stearat ($C_{18}H_{36}O_2$) memiliki sinonim antara lain Asam oktadekanoat, asam setilasetat, asam 1-heptadekanekarboksilat (Gambar 2.6). Asam lemak jenuh tersebut digunakan secara luas untuk formulasi oral dan topikal pada sediaan farmasi. Pada sediaan topikal, asam stearat digunakan sebagai bahan pengemulsi dan agen pelarut. Asam stearat memiliki titik lebur $69-70^{\circ}C$. Bahan ini mudah larut dalam benzena, kloroform, eter dan etanol 95% serta tidak larut dalam air. Asam stearat tidak dapat bercampur dengan hidroksida logam dan dengan agen pengoksidasi. Konsentrasi yang umum digunakan dalam sediaan krim adalah 1–20% (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

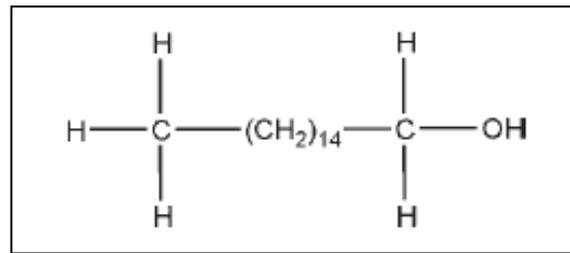


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.6. Struktur kimia asam stearat

2.8.1.2 Setil alkohol

Setil alkohol ($C_{16}H_{34}O$) (Gambar 2.7) adalah alkohol lemak yang berbentuk serpihan putih licin, granul, atau kubus yang mengandung gugusan kelompok hidroksil (Depkes, 1995). Setil alkohol banyak digunakan sebagai bahan pengemulsi dan bahan pengeras dalam sediaan krim. Titik leleh $45-52^{\circ}C$. Bahan ini sangat mudah larut dalam etanol 95% dan eter. Kelarutannya akan meningkat bila suhu dinaikkan. Setil alkohol tidak larut dalam air. Konsentrasi umum yang digunakan sebagai bahan pengeras adalah 2-10% dan sebagai bahan pengemulsi maupun emolien adalah 2-5%. Semakin besar konsentrasi setil alkohol yang digunakan dalam formulasi, emulsi yang terbentuk akan semakin padat (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

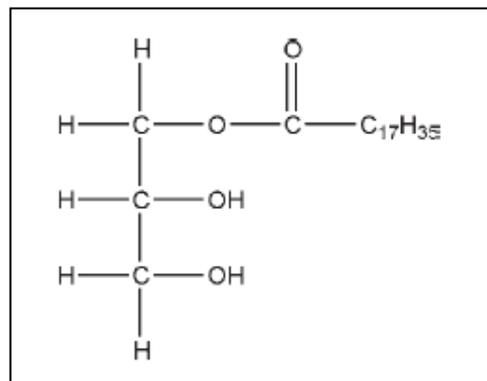


[Sumber: Rowe *et al.*, 2009.]

Gambar 2.7. Struktur kimia setil alkohol

2.8.1.3 Gliseril monostearat

Gliseril monostearat ($\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_4$) (Gambar 2.8) adalah ester gliserol dengan asam lemak (asam stearat) yang banyak digunakan sebagai emulsifier nonionic, stabilisator, emolien dalam industri kosmetik. Gliseril monostearat merupakan surfaktan nonionik yang dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi. Sebagai stabilisator yang efektif, gliserol monostearat bertindak sebagai pelarut untuk senyawa polar dan nonpolar sehingga dapat membentuk emulsi air dalam minyak maupun emulsi minyak dalam air. Selain itu, bahan ini juga dapat digunakan sebagai bahan emolien, penstabil, pelarut, dan sebagai *plasticizer* dalam produk makanan, farmasetika dan kosmetik. Gliseril monostearat memiliki titik leleh $55\text{--}60^\circ\text{C}$. Bahan ini larut dalam etanol panas, eter, kloroform, dan aseton panas serta tidak larut dalam air. Gliserol monostearat umumnya tidak menyebabkan toksik dan iritasi. Bahan ini tidak dapat bercampur dengan zat-zat yang bersifat asam. Konsentrasi umum yang digunakan sebagai bahan pengemulsi tunggal sebesar $5\text{--}20\%$ dari basis krim (Kibbe, 2000; Rowe *et al.*, 2009).

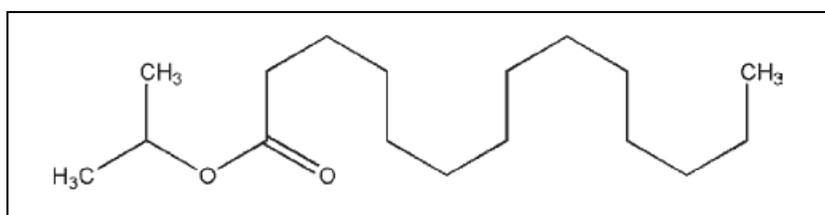


[Sumber: Rowe *et al.*, 2009.]

Gambar 2.8. Struktur kimia gliseril monostearat

2.8.1.4 Isopropil miristat

Isopropil miristat ($C_{17}H_{34}O_2$) (Gambar 2.9) merupakan senyawa yang terdiri dari ester isopropil alkohol dan asam lemak jenuh berbobot molekul tinggi, terutama asam miristat (Depkes, 1995). Isopropil miristat merupakan bahan emolien, yaitu bahan yang dapat memberikan rasa halus dan nyaman ketika dipakai pada kulit. Bahan ini juga dapat mengurangi penguapan air dari kulit dan meningkatkan penetrasi kulit. Bahan ini mudah bercampur dengan aseton, kloroform, etanol, etil asetat, lemak, toluen, dan malam. Isopropil miristat tidak larut dalam gliserin, propilen glikol, dan air. Titik bekunya adalah $3^{\circ}C$ dan titik didihnya adalah $140,2^{\circ}C$ pada tekanan 2 mmHg. Konsentrasi yang biasa digunakan dalam sediaan krim adalah 1-10% (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

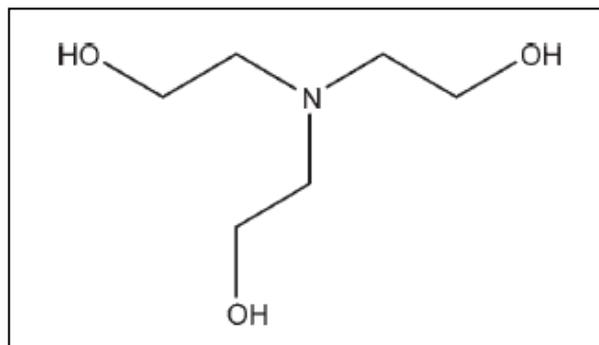


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.9. Struktur kimia isopropil miristat.

2.8.1.5 Trietanolamin (TEA)

Trietanolamin ($C_6H_{15}NO_3$) (Gambar 2.10) merupakan senyawa organik yang terdiri dari sebuah amina tersier dan triol. Trietanolamin digunakan secara luas dalam sediaan topikal sebagai bahan pengemulsi anionik. Trietanolamin merupakan cairan kental bening, bersifat higroskopis dan memiliki titik lebur 20–21 °C (Depkes, 1995). Bahan ini mudah larut dalam air, metanol dan aseton. Konsentrasi umum yang digunakan sebagai bahan pengemulsi adalah sebesar 2–4% (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

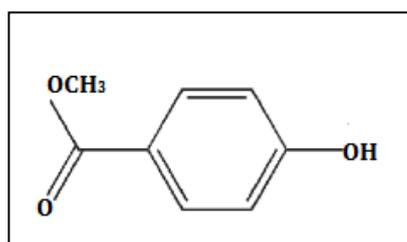


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.10. Struktur kimia trietanolamin.

2.8.1.6 Metilparaben (nipagin)

Metilparaben ($C_8H_8O_3$) (Gambar 2.11) secara luas digunakan sebagai pengawet antimikroba dalam sediaan kosmetik, produk makanan dan formulasi obat-obatan. Bahan ini dapat digunakan secara tunggal, kombinasi dengan senyawa paraben lain, ataupun dengan antimikroba lain (Kibbe, 2000). Metilparaben berbentuk serbuk hablur putih, tidak berbau atau berbau khas lemah, meberikani sedikit rasa terbakar (Depkes, 1995). Bahan ini mudah larut dalam etanol (1:2), eter (1:10), propilen glikol (1:5), dan air panas dengan suhu $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1:40) (Rowe *et al*, 2009). Metilparaben sukar larut dalam air, benzen dan dalam karbon tetraklorida (Depkes, 1995). Metilparaben menunjukkan aktivitas antimikroba antara pH 4–8, paling efektif terhadap ragi dan kapang. Aktivitas antimikroba metilparaben dan senyawa paraben lain diperkirakan menurun dengan adanya surfaktan nonionik, akan tetapi penambahan propilen glikol ($\pm 10\%$) akan mencegah interaksi antara metilparaben dengan surfaktan nonionik (Wade & Weller, 1994). Konsentrasi metilparaben yang biasa digunakan pada sediaan topikal adalah 0,020-0,3% (Kibbe, 2000).

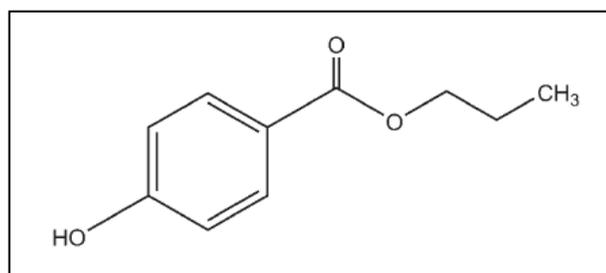


[Sumber: Rowe *et al*, 2009, telah diolah kembali.]

Gambar 2.11. Struktur kimia metilparaben.

2.8.1.7 Propilparaben (Nipasol)

Propilparaben ($C_{10}H_{12}O_3$) (Gambar 2.12) secara luas digunakan sebagai pengawet antimikroba dalam sediaan kosmetik, produk makanan dan formulasi obat-obatan. Bahan ini dapat digunakan secara tunggal, kombinasi dengan senyawa paraben lain, ataupun dengan antimikroba lain (Kibbe, 2000). Propilparaben berbentuk serbuk putih atau hablur kecil, tidak berwarna (Depkes, 1995). Bahan ini sangat mudah larut dalam aseton dan eter, mudah larut dalam etanol (1:1,1), dan propilen glikol (1:3,9). Propilparaben sangat sukar larut dalam air (1:4.350 pada suhu $15\text{ }^{\circ}\text{C}$) dan pada air dengan suhu $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1:225) (Rowe *et al.*, 2009). Propilparaben menunjukkan aktivitas antimikroba antara pH 4 – 8. Konsentrasi propilparaben yang biasa digunakan pada sediaan topikal adalah 0,01-0,6% (Kibbe, 2000).



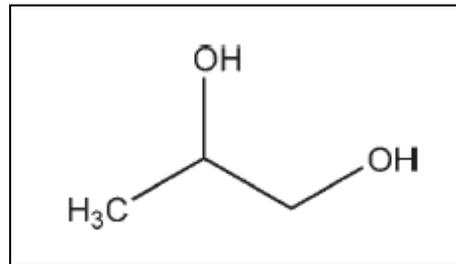
[Sumber: Rowe *et al.*, 2009.]

Gambar 2.12. Struktur kimia propilparaben.

2.8.1.8 Propilen glikol

Propilen glikol ($C_3H_8O_2$) (Gambar 2.13) digunakan secara umum sebagai bahan pengawet, disinfektan, bahan humektan, pelarut, dan penstabil. Pada sediaan kosmetik dan industri makanan, propilen glikol digunakan sebagai pembawa untuk bahan emulsi (Kibbe, 2000). Propilen glikol berbentuk cairan kental, jernih, tidak berwarna, memiliki rasa khas, tidak berbau, dan menyerap air pada udara lembab (Depkes, 1995). Bahan ini dapat bercampur dengan aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin dan air serta dapat larut dalam eter (1:6) dan beberapa minyak esensial. Propilen glikol tidak dapat bercampur dengan minyak lemak (Rowe *et al.*, 2009). Propilen glikol digunakan sebagai humektan pada sediaan topikal dengan konsentrasi hampir 15% dan sebagai solven (pelarut) atau

kosolven dengan konsentrasi 5–80%. Selain itu, propilen glikol juga dapat digunakan sebagai bahan pengawet dengan konsentrasi 15–30% (Kibbe, 2000). Bahan ini merupakan bahan yang tidak toksik tetapi apabila penggunaannya melebihi batas maksimal akan menyebabkan iritasi (Rowe *et al*, 2009).

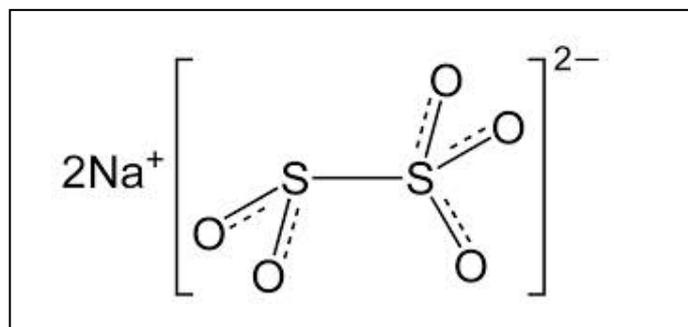


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.13. Struktur kimia propilen glikol.

2.8.1.9 Natrium Metabisulfit (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009)

Natrium metabisulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) digunakan sebagai antioksidan pada sediaan farmasetika topikal, oral dan parenteral dengan konsentrasi 0,01-1,0% b/v. Natrium metabisulfit juga memiliki aktivitas antimikroba yang lebih besar pada suasana asam.



[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.14. Struktur kimia natrium metabisulfit.

2.8.2 Stabilitas Krim

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk obat atau kosmetik untuk bertahan dalam spesifikasi yang diterapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas, dan

kemurnian produk. Sediaan kosmetik dikatakan stabil jika selama periode waktu penyimpanan dan penggunaan, sifat dan karakteristiknya masih sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat (Djajadisastra, 2004). Observasi yang diamati untuk melihat kestabilan sediaan mencakup perubahan kimia (perubahan warna, warna menjadi pudar/ gelap, perubahan bau, terbentuknya gas, *staining*, terbentuknya kristal, dan lain sebagainya) dan perubahan fisika (terjadi pemisahan fase, sedimentasi, pengendapan suspensi atau *caking*, agregasi, pecahnya emulsi, perubahan konsistensi, dan lain sebagainya) (Mitsui, 2000).

2.8.2.1 Indikator Kerusakan Emulsi (Djajadisastra, 2004)

- a. *Creaming* merupakan proses pada emulsi dengan partikel yang kurang rapat cenderung ke atas permukaan sehingga terjadi pemisahan menjadi dua emulsi.
- b. Flokulasi adalah penggabungan globul yang bergantung pada gaya tolak-menolak elektrostatis (*zeta potential*).
- c. Koalesen atau penggumpalan ialah proses dimana tetesan dua fase internal mendekat dan berkombinasi membentuk partikel yang lebih besar.
- d. Inversi merupakan peristiwa dimana fase eksternal menjadi fase internal atau sebaliknya.

2.8.2.2 Uji Stabilitas Dipercepat

Pengujian ini dimaksudkan untuk mendapatkan informasi yang diinginkan dalam waktu sesingkat mungkin dengan cara menyimpan sediaan sampel pada kondisi yang dirancang untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasa terjadi pada kondisi normal. Uji stabilitas dipercepat dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kestabilan suatu sediaan kosmetik dalam waktu yang lebih singkat dengan cara menyimpan sampel pada kondisi yang dirancang untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasanya terjadi pada kondisi normal. Jika hasil pengujian suatu sediaan pada uji dipercepat diperoleh hasil yang stabil, hal tersebut menunjukkan bahwa sediaan stabil pada penyimpanan suhu kamar selama setahun (Djajadisastra, 2004).

a. Suhu yang dinaikan

Setiap kenaikan suhu 10°C akan mempercepat reaksi 2 sampai 3 kalinya, tetapi cara ini agak terbatas karena pada kenyataannya suhu yang jauh di atas normal akan menyebabkan perubahan yang tidak pernah terjadi pada suhu normal (Djajadisastra, 2004).

b. Kelembaban yang dinaikkan

Uji ini biasanya digunakan untuk menguji kemasan produk. Jika terjadi perubahan pada produk dalam kemasan karena pengaruh kelembaban, maka hal ini menandakan bahwa kemasannya tidak memberikan perlindungan yang cukup terhadap atmosfer (Djajadisastra, 2004).

c. *Cycling test*

Uji ini digunakan sebagai simulasi adanya perubahan suhu setiap tahun bahkan setiap hari. Uji dilakukan pada suhu dan kelembaban pada interval waktu tertentu sehingga produk dalam kemasan akan mengalami yang bervariasi daripada stres statis (Djajadisastra, 2004).

d. Uji mekanik

Uji ini dilakukan untuk mengetahui terjadinya pemisahan fase dari emulsi. Sampel disentrifugasi pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam atau 5.000-10.000 rpm selama 30 menit. Perlakuan tersebut sama besarnya dengan pengaruh gaya gravitasi terhadap penyimpanan krim selama setahun (Djajadisastra, 2004).

2.8.2.3 Parameter Uji Stabilitas

a. Organoleptis

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengamati apakah terjadi perubahan atau pemisahan emulsi, timbul bau atau tidak, dan perubahan warna (Djajadisastra, 2004).

b. Viskositas (sifat alir)

Berdasarkan Hukum Stokes, kenaikan viskositas akan meningkatkan kestabilan sediaan. Namun, viskositas yang terlampau tinggi menyebabkan krim sulit diaplikasikan pada kulit (Martin, Swarbick, & Cammarata, 1990).

c. Ukuran partikel

Perubahan dalam ukuran partikel rata-rata atau distribusi ukuran globul merupakan tolak ukur penting untuk mengevaluasi emulsi, dimana emulsi keruh diameter globul berkisar antara 0,5-50 μm . Ukuran partikel merupakan indikator utama kecenderungan terjadinya *creaming* atau *breaking*. Terdapat hubungan antara partikel dengan viskositas, dimana kenaikan viskositas akan meningkatkan stabilitas sediaan (berdasarkan hukum Stokes) (Djajadisastra, 2004).

d. Pemeriksaan pH

Krim sebaiknya memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit, yaitu 4,5-6,5 karena jika krim memiliki pH yang terlalu basa dapat menyebabkan kulit menjadi bersisik, sedangkan jika pH terlalu asam maka akan menimbulkan iritasi kulit (Djajadisastra, 2004).

e. Konsistensi

Konsistensi atau kepadatan adalah karakteristik fisik yang penting pada suatu sediaan semisolid. Pengukuran konsistensi untuk sediaan kosmetik seperti krim digunakan penetrometer bentuk corong. Semakin tinggi nilai konsistensi krim menunjukkan bahwa krim tersebut memiliki karakteristik penyebaran yang baik. Nilai konsistensi krim yang baik adalah 360 1/10 mm (Djajadisastra, 2004).

2.9 Penetapan Daya Penetrasi Sediaan

Formulasi suatu sediaan transdermal yang baik harus dapat memberikan pelepasan obat yang optimal dan deposisi obat ke dalam lapisan kulit yang ingin dicapai yaitu stratum korneum, epidermis, atau dermis. Studi penetrasi kulit secara *in vitro* dilakukan untuk mengukur kecepatan dan jumlah senyawa yang melewati kulit, di mana hal tersebut bergantung pada obat, bentuk sediaan, bahan

eksipien, bahan peningkat penetrasi, dan variabel formulasi lainnya (Witt dan Bucks, 2003)

Salah satu metode untuk menguji daya penetrasi suatu sediaan secara *in vitro* yaitu dengan menggunakan sel difusi Franz. Sel difusi Franz yang terbagi atas dua kompartemen yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor yang terpisahkan oleh suatu pelapis atau potongan kulit. Membran yang digunakan dapat berupa kulit manusia atau kulit hewan atau membran artifisial. Membran diletakkan di antara kedua kompartemen yang dilengkapi dengan O-ring untuk menjaga letak membran. Selanjutnya kompartemen reseptor diisi dengan larutan penerima. Suhu pada sel dijaga dengan sirkulasi air menggunakan *water jacket* di sekeliling kompartemen reseptor. Sediaan yang akan diuji diaplikasikan pada membran kulit. Kemudian pada interval waktu tertentu cairan dari kompartemen reseptor diambil beberapa mL dan segera digantikan dengan cairan yang sama sejumlah cairan yang diambil. Selanjutnya jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit dapat dianalisis dengan metode yang sesuai (Wang, Hong, Chiu dan Fang, 2001; Iswandana, 2009).

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Laboratorium Fakultas Teknobiologi Universitas Atmajaya (Kampus Semanggi, Jakarta), Laboratorium BioFarmaka IPB (Taman Kencana Bogor), Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (Yogyakarta), Laboratorium Penelitian Farmasi Fisika, Laboratorium Farmasetika, Laboratorium Fitokimia, dan Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, dari bulan September 2012 hingga Juni 2013.

3.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah *rotary vacuum evaporator* (Janke dan Kunkel IKA, Jerman), timbangan analitik (Accu-Lab), lempeng KLT Silika gel F₂₅₄ (Merck, Jerman), bejana KLT (CAMAG), pipet kapiler kuantitatif (CAMAG), *TLC Scanner III* (CAMAG), nanomat 4 (CAMAG), komputer yang dilengkapi dengan program winCATS, lemari pendingin (Panasonic), penangas air (Memmert, Hongkong), penetrometer (Herzog, Jerman), pH meter tipe-510 (Eutech Instrument, Singapura), oven (Memmert, Jerman), viskometer brookfield (Brookfield, USA), sel difusi Franz standar USP, mikroskop optik (Nikon model Eclipse E 200, Jepang), kamera digital (Canon Power Shot A470, Jepang), pengaduk magnetik (Boeco MSH-300, Jerman), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), termostat (Polyscience model 9000, Amerika Serikat), jangka sorong (Vernier Caliper, Cina), silet Goal (The Gillete Company, Jerman), spektrofotometer UV-Vis, mikroskop optik, timbangan analitik, *homogenizer* (Omni-Multimix Inc., Malaysia), *ultrasentrifuge* (Thermo Sorvall), penangas air, termostat, jangka sorong, kamera digital, termometer dan alat-alat gelas.

3.1 Bahan

3.1.1 Simplisia

Buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang diperoleh dari pasar Induk Kramat Jati.

3.3.2 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ialah tikus putih betina galur *Sprague Dawley* berumur 8-9 minggu dengan bobot berkisar 150-200 gram (Institut Pertanian Bogor, Indonesia).

3.3.3 Bahan Kimia

Alfa-mangostin 98% HPLC (Sigma Aldrich), fosfatidilkolin 60% (Sigma Aldrich), kolesterol (Sigma Aldrich), gas nitrogen, klorofom (Merck), metanol pa (Mallincrodt), kalium dihidrogen fosfat (Merck), natrium hidroksida (Brataco), aquademineralisata (Brataco), tween 80 (Brataco), diklorometana (teknis yang didestilasi), asam stearat (Brataco), isopropil miristat (Brataco), setil alkohol (Brataco), propil paraben (Brataco), propilen glikol (Brataco), gliseril monostearat (Brataco), kalium hidroksida (Brataco), metilparaben (Ueno).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Persiapan Fraksi Diklorometana

3.4.1.1 Persiapan Simplisia

Kulit buah manggis diiris tipis-tipis dan dikeringkan pada udara terbuka selama 7 hari. Setelah kulit buah manggis kering, dihaluskan menjadi serbuk sehingga diperoleh serbuk dengan berat 1 Kg (Hyun-Ah *et al.*, 2006).

3.4.1.2 Ekstraksi Kulit Buah Manggis

Serbuk kulit buah manggis sebanyak 1 kg dimaserasi dengan metanol 3 x 500 mL masing-masing selama 24 jam pada suhu ruang, diuapkan dalam *rotary evaporator* pada suhu 50°C kemudian menghasilkan 300 gram ekstrak kasar metanol (Hyun-Ah *et al.*, 2006).

3.4.1.3 Pembuatan Fraksi Diklorometana Ekstrak Kulit Buah Manggis

Ekstrak kental metanol kulit buah manggis ditambahkan aquadestilata sebanyak 500 mL untuk memperoleh larutan cair kemudian dipartisi dengan 400 mL *n*-heksan pa sebanyak tiga kali, lalu dipartisi dengan 400 mL diklorometan pa sebanyak dua kali. Hasil fraksinasi dengan diklorometan disimpan di ruang asam selama kurang lebih 48 jam (titik didih diklorometan 39,8°C) sampai semua pelarut hilang dan dihasilkan serbuk hasil fraksinasi diklorometan (Hyun-Ah *et al.*, 2006).

3.4.2 Penapisan Fitokimia

3.4.2.1 Identifikasi Alkaloid dengan Metode Mayer, Wagner dan Dragendorff

Serbuk simplisia kulit buah manggis ditimbang sejumlah 1 gram lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Lalu ditambahkan beberapa tetes NH_4OH dan 5 mL kloroform, lalu disaring. Filtratnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi ditambahkan 6 mL H_2SO_4 2M dan lapisan asamnya dipisahkan ke tabung reaksi lainnya. Lapisan asam ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan pereaksi Dragendorf, Mayer dan Wagner, yang akan menimbulkan endapan warna berturut-turut putih, cokelat dan merah jingga.

3.4.2.2 Identifikasi Saponin

Sampel sebanyak 5 gram serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Akuades 10 mL ditambahkan lalu dipanaskan 5 menit, lalu disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat dikocok dengan kuat. Bila buih yang terbentuk tidak hilang dalam waktu 10 menit, dan dengan penambahan 1 tetes HCl 2N buih juga tidak hilang, maka simplisia mengandung saponin.

3.4.2.3 Identifikasi Senyawa Tanin

Sampel sebanyak 5 gram serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Akuades 10 mL ditambahkan lalu dipanaskan 5 menit, lalu disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat ditambahkan larutan FeCl_3 1%. Apabila

terbentuk warna hitam kehijauan, maka dalam simplisia tersebut menunjukkan adanya senyawa tanin.

3.4.2.4 Identifikasi Flavonoid

Sampel sebanyak 5 gram serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Akuades 10 mL ditambahkan lalu dipanaskan 5 menit, lalu disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat sebanyak 5 mL dipipet lalu ditambahkan sedikit bubuk magnesium, 2 mL amil alkohol dan 1 mL larutan yang terdiri dari perbandingan HCl pekat dan etanol 1:1, lalu dikocok kuat. Bila lapisan amil alkohol berwarna jingga atau merah jingga berarti simplisia mengandung flavonoid. Metode dilakukan di lemari asam.

3.4.2.5 Identifikasi Steroid dan Triterpenoid

Sampel sebanyak 1 gram serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Etanol panas 10 mL ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan disaring. Filtrat dipanaskan hingga kering, lalu ditambahkan 1 mL dietil eter, dan dihomogenasikan. Ditambahkan 1 tetes H_2SO_4 pekat dan 1 tetes CH_3COOH anhidrat. Bila larutan berwarna hijau/biru, maka simplisia mengandung senyawa steroid. Bila larutan berwarna merah/ungu, maka simplisia mengandung senyawa triterpenoid.

3.4.2.6 Identifikasi Hidrokuinon

Sampel sebanyak 1 gram ditambahkan metanol dan dipanaskan, serta disaring. Hasil saring ditambahkan 3 tetes NaOH 10%. Bila sampel berwarna merah, maka simplisia mengandung hidrokuinon.

3.4.3 Penetapan Kadar α -mangostin dalam Fraksi Diklorometana dengan KLT Densitometri

3.4.3.1 Pemilihan eluen untuk Penetapan Kadar α -Mangostin

Untuk mendapatkan eluen yang sesuai agar α -Mangostin dalam fraksi dapat terpisah dari senyawa lain, maka dilakukan orientasi eluen. Eluen terpilih

adalah eluen yang dapat memberikan profil pemisahan terbaik. Pemisahan dapat dilihat di bawah lampu ultraviolet (UV) pada panjang gelombang 366 nm. Eluen yang digunakan dalam penelitian ialah: Kloroform-Etil Asetat (8,5:1,5) (Pothitirat dan Gritsanapan 2008).

3.4.3.2 Penyiapan Larutan Standar α -mangostin untuk Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar yang digunakan yaitu 100 $\mu\text{g/mL}$, 80 $\mu\text{g/mL}$, 60 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, dan 10 $\mu\text{g/mL}$. Untuk membuat larutan 100 $\mu\text{g/mL}$, standar α -mangostin ditimbang seksama sebanyak 2,5 mg lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL secara kuantitatif, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga larut. Dari larutan 2500 $\mu\text{g/mL}$ dipipet 8,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklorometana dan dikocok hingga larut sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 80 $\mu\text{g/mL}$. Dipipet sebanyak 6,0 mL larutan 100 $\mu\text{g/mL}$ lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL dan ditambahkan diklorometana hingga garis batas lalu dikocok hingga larut sehingga diperoleh larutan 60 $\mu\text{g/mL}$. Dari larutan 100 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 4,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 40 $\mu\text{g/mL}$. Dari larutan 100 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 2,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 20 $\mu\text{g/mL}$. Dari larutan 40 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 5,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 20,0 mL, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 10 $\mu\text{g/mL}$.

3.4.3.3 Penyiapan Larutan Sampel

Fraksi diklorometana ekstrak kulit buah manggis ditimbang seksama sebanyak 5 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Ditambahkan diklormetana hingga garis batas labu, dikocok hingga larut dan

diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 500 µg/mL. Dari larutan 500 µg/mL dipipet sebanyak 1,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan metanol hingga garis batas, lalu dikocok hingga homogen dan memperoleh larutan 50 µg/mL. Penyiapan sampel dilakukan sebanyak 3 kali.

3.4.3.4 Proses Pengembangan pada Lempeng KLT

Sebelum proses pengembangan dilakukan, bejana harus dijenuhkan terlebih dahulu dengan eluen yang digunakan, yaitu campuran antara kloroform-etil asetat dengan perbandingan 8,5:1,5 selama 60 menit. Larutan standar α -mangostin dengan konsentrasi berbeda dan larutan sampel (triplo) ditotolkan pada lempeng KLT silika gel F₂₅₄, masing-masing volume penotolan 5 µL. Penotolan dilakukan pada lempeng KLT ukuran 8 cm x 7 cm dengan jarak antar titik penotolan 0,5 cm dan titik penotolan 1 cm dari tepi bawah. Lempeng yang sudah ditotolkan dan diberi tanda kemudian dikembangkan di dalam bejana yang telah jenuh dengan eluen dengan jarak pengembangan yaitu hingga 6,5 cm.

3.4.3.5 Pemilihan Panjang Gelombang Optimum untuk Deteksi

Untuk memperoleh panjang gelombang optimum, dilakukan pengukuran serapan maksimum menggunakan *TLC Scanner* pada panjang gelombang 200-400 nm. Kemudian dicatat panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum.

3.4.3.6 Perhitungan Kadar α -Mangostin

Setelah elusi selesai, lempeng dikeringkan kemudian segera dianalisis menggunakan *TLC Scanner* pada panjang gelombang optimum yang telah diperoleh. Perhitungan konsentrasi α -mangostin terukur dilakukan berdasarkan persamaan kurva kalibrasi yang telah diperoleh sesuai dengan persamaan berikut.

$$y = a + bx$$

Keterangan:

x = Konsentrasi terukur (µg)

y = Luas puncak atau tinggi puncak

Setelah diperoleh konsentrasi terukur menggunakan persamaan kurva kalibrasi di atas, dihitung kadar α -Mangostin dalam sampel menggunakan rumus di bawah

ini. Kadar yang diperoleh merupakan kadar dalam sediaan fraksi diklorometan kulit buah manggis.

$$\text{Kadar (\%)} = \frac{\text{Konsentrasi Terukur}}{\text{Konsentrasi Tototan}} \times 100$$

3.4.4 Pembuatan Liposom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis

3.4.4.1 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 7,4

Larutan dapar fosfat dibuat dengan mencampurkan 50 mL kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 42,80 mL natrium hidroksida 0,2 N di dalam labu ukur 200,0 mL, kemudian dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit dengan aquademineralisata bebas CO₂ hingga 200 mL. Sebelumnya, kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dibuat dengan menimbang 1,3609 gram serbuk kalium dihidrogen fosfat, larutkan dengan aquademineralisata bebas CO₂ di dalam labu ukur 250,0 mL, dan dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit hingga batas labu ukur. Untuk pembuatan natrium hidroksida 0,2 N pelet natrium hidroksida ditimbang sebanyak 8,0 gram, lalu dilarutkan dalam 1 liter aquademineralisata bebas CO₂ (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979).

3.4.4.2 Pembuatan Liposom

Pada penelitian ini dibuat sebuah formulasi liposom seperti yang tertera pada Tabel 3.1. Formula tersebut dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis. Hasil fraksinasi ekstrak kulit buah manggis, fosfatidilkolin dan kolesterol ditimbang, lalu semua bahan tersebut dicampur dan dilarutkan dalam 10 mL diklorometan. Larutan tersebut selanjutnya dievaporasi dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut organik selama 1-2 jam pada suhu 45-50°C dengan kecepatan 150 rpm dengan kondisi vakum. Labu bulat kemudian dilepaskan dari *rotary evaporator* lalu dialiri dengan gas nitrogen, diamkan selama 24 jam dengan mulut labu tertutup. Tahapan selanjutnya hidrasi dengan dapar fosfat pH 7,4. Labu diletakkan pada *rotary evaporator* suhu 60°C tidak divakum dengan kecepatan 70 rpm. Hasil suspensi tersebut dipindahkan dari *rotary evaporator* lalu didiamkan hingga dingin pada suhu 4°C. Setelah dingin didiamkan selama 48 jam untuk

selanjutnya tahapan pengecilan ukuran. Pengecilan ukuran liposom dilakukan dengan *bath-sonication* selama 20 menit (Mitkari, Korde, Mahdik dan Kokare, 2010).

Tabel 3.1. Formulasi Liposom yang mengandung fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit buah manggis

Bahan	Formulasi (6:1)
Frakasi ekstrak kulit buah manggis	100 mg
<i>Egg Phosphatidilcholine</i> 60%	515 mg
Kolesterol	43 mg
Diklorometana	10 mL
Dapar fosfat pH 7,4	5 mL

3.4.4.3 Pemurnian Liposom

Liposom yang mengandung hasil fraksinasi ekstrak kulit buah manggis disentrifugasi untuk memisahkan dengan ekstrak yang tidak terjerap dengan kecepatan 30.000 rpm selama 1 jam pada suhu 4°C. Melalui proses ultrasentrifugasi ini akan terbentuk pemisahan antara supernatan dan presipitatnya. Liposom yang telah dimurnikan disimpan dalam vial pada suhu 4°C (Mitkari *et al.*, 2010).

3.4.4.4 Evaluasi Liposom

3.4.4.4.1 Morfologi Bentuk Vesikel

Morfologi liposom dievaluasi dengan melihat bentuk fisik globul liposom menggunakan TEM (*Transmission Electron Microscopy*) perbesaran digital 2000 kali dan 4000 kali (Ramadhani, 2011).

3.4.4.4.2 Distribusi Ukuran Partikel Liposom

Penetapan distribusi ukuran partikel dideterminasi menggunakan metode *light scattering* (pemendaran cahaya) dengan menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA) pada suhu 25°C. Distribusi ukuran partikel ditetapkan dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) yang memiliki kemampuan batas pengukuran 400 nm. Larutan berisi akuades dan sampel dimasukkan ke ke dalam *fluid tank*

sebagai *baseline*, kemudian sampel dimasukkan ke dalam *fluid tank* tetes demi tetes hingga konsentrasi yang mencukupi untuk dapat diukur, setelah itu akan terukur ukuran partikel globul-globul liposom. Sampel dipendar pada 35 mW dan 632,8 nm menggunakan *He-Ne mono-wavelength* (Kwon, 2011). Pengukuran distribusi ukuran partikel dilakukan baik untuk liposom sebelum disonikasi maupun setelah disonikasi.

3.4.5 Penentuan Efisiensi Penjerapan Liposom secara KLT Densitometri

3.4.5.1 Persiapan Larutan Liposom Total dan Supernatan

Larutan standar α -mangostin (kemurnian 98%) dipersiapkan dengan seperti prosedur 3.4.3.2. Total liposom (1,0 g) ditimbang dan ditaruh ke dalam 25,0 mL labu ukur. Metanol ditambahkan sampai volume akhir mencapai 4000 $\mu\text{g/mL}$. Penyiapan sampel dilakukan untuk ketiga total liposom.

Supernatan liposom ditimbang $\pm 500,0$ mg, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Metanol ditambahkan ke dalam labu sampai batas labu, dikocok hingga larut dan diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 5.000 $\mu\text{g/mL}$. Dari larutan 5.000 $\mu\text{g/mL}$ dipipet 8,0 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Metanol ditambahkan ke dalam labu sampai batas labu, dikocok hingga larut dan diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 4.000 $\mu\text{g/mL}$. Penyiapan tersebut dilakukan pada ketiga supernatan liposom.

3.4.5.2 Perhitungan Efisiensi Penjerapan Liposom

Konsentrasi liposom total dan supernatan (sebelum dilakukan ultrasentrifugasi) ditetapkan dengan KLT densitometri. Setelah diperoleh konsentrasi terukur menggunakan persamaan kurva kalibrasi, efisiensi penjerapan dalam liposom dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Efisiensi Penjerapan (\%)} = \frac{KT - KS}{KT} \times 100$$

Dimana KT adalah Konsentrasi Total dan KS adalah Konsentrasi Supernatan.

3.4.6 Pembuatan Sediaan Krim

Formulasi basis krim yang dibuat pada penelitian ini tertera pada tabel 3.2, sedangkan formulasi krim tertera pada tabel 3.3. Dalam proses pembuatan basis krim, bahan-bahan fase air (metil paraben, trietanolamin, propilen glikol, natrium metabisulfit) ditambahkan ke dalam akuademineralisata bebas CO₂, lalu dipanaskan sampai suhu 70°C untuk membuat fase air. Bahan-bahan fase minyak (asam stearat, setil alkohol, isopropil miristat, gliseril monostearat, propil paraben) dicampur dan dipanaskan untuk membuat larutan bening dan suhunya dijaga pada 70°C.

Tabel 3.2. Formulasi Basis Krim

Bahan Kimia	Presentase (%)	Fungsi
Asam Stearat	5	Emolien
Setil Alkohol	3	Emolien
Gliserin Mono Stearat (GMS)	2	Emulgator
Isopropil Miristat (IPM)	3	Emulgator
Tri Etanol Amin (TEA)	0,4	Emulgator
Metil Paraben	0,2	Pengawet
Propil Paraben	0,1	Pengawet
Propilen Glikol	10	Humektan
Na-metabisulfit	0,1	Antioksidan
Akuademineralisata bebas CO ₂	Ad 100	Basis

[modifikasi dari Rieger, 2000]

Tabel 3.3. Formulasi Krim Liposom

Bahan Kimia	Blanko (%)	Formula I (%)	Formula II (%)	Formula III (%)
Liposom	-	5	10	15
Asam Stearat	5	5	5	5
Setil Alkohol	3	3	3	3
GMS	2	2	2	2
IPM	3	3	3	3
TEA	0,4	0,4	0,4	0,4
Metil Paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Propil Paraben	0,1	0,1	0,1	0,1
Propilen Glikol	10	10	10	10
Na-metabisulfit	0,1	0,1	0,1	0,1
Akuademineralisata bebas CO ₂	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

[Modifikasi dari Rieger, 2000]

Untuk pembuatan krim liposom, krim basis harus dibiarkan agar suhunya turun sampai pada suhu 40°C terlebih dahulu, lalu ditambahkan presipitat dari liposom yang mengandung fraksi diklorometan ekstrak kulit buah manggis dengan pengadukan 3000 rpm. Penambahan liposom ke dalam basis krim dilakukan dengan cara trituras. Untuk pembuatan krim fraksi diklorometana, krim basis juga harus dibiarkan agar suhunya turun sampai pada suhu 40°C terlebih dahulu lalu ditambahkan fraksi diklorometana kulit buah manggis, dan dilakukan pengadukan 3000 rpm. Pada formula krim I, II, III dilakukan penambahan presipitat liposom sebanyak 5%, 10%, dan 15% (krim blanko tanpa liposom). Lalu fase minyak ditambahkan ke dalam fase air dengan pengadukan. Selanjutnya dilakukan homogenisasi dengan homogenizer, didiamkan menjadi dingin.

3.4.7 Evaluasi Sediaan Krim (Djajadisastra, 2002)

3.4.7.1 Pengamatan Organoleptis

Uji organoleptik dilakukan untuk membandingkan krim kontrol dengan krim perlakuan. Sifat organoleptik yang diamati antara lain: kesan lengket, kesan hangat, homogenitas dan warna.

3.4.7.2 Pemeriksaan Homogenitas

Krim diletakkan di antara dua kaca objek, diamati adanya partikel-partikel kasar atau ketidakhomogenan di bawah cahaya.

3.4.7.3 Pengukuran pH

Mula-mula dilakukan standarisasi dengan cara elektroda pH meter dicelupkan ke dalam pH standar 4 dan 7, lalu dicuci dengan akuades. Sebanyak 1 gram krim diencerkan dengan akuades (1:10). Pengukuran dilakukan pada suhu ruang. Bagian elektroda pHmeter dimasukkan ke dalam contoh yang telah diencerkan dan angka yang terlihat pada layar adalah nilai pH-nya. Berdasar Standarisasi Nasional Indonesia (SNI:16.4399.1996) yang dianggap stabil bila pH tetap dikisaran 4,5-8.

3.4.7.4 Pemeriksaan Konsistensi

Krim dimasukkan ke dalam wadah khusus dan diletakkan pada meja penetrometer. Peralatan diatur hingga ujung kerucut menyentuh bayang permukaan krim yang dapat diperjelas dengan menghidupkan lampu. Batang pendorong dilepas dengan mendorong tombol *start*. Angka penetrasi dibaca 5 detik setelah kerucut menembus krim. Dari pengukuran konsistensi dengan penetrometer akan diperoleh *yield value*. Pemeriksaan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

3.4.7.5 Penentuan Viskositas dan sifat Alir

Pengukuran viskositas dilakukan dengan viskometer Brookfield. Krim dimasukkan ke dalam wadah *beaker glass*, lalu pasang spindel, dimana spindel diturunkan ke dalam sediaan hingga batas yang ditentukan. Pengukuran dilakukan dengan viskometer Brookfield dengan kecepatan diatur mulai dari 2, 4, 10, dan 20 rpm, lalu dibalik dari 20, 10, 4, dan 2 rpm. Masing-masing pengukuran dengan perbedaan rpm dibaca skalanya ketika jarum merah yang bergerak telah stabil. Data yang diperoleh diplotkan terhadap tekanan geser (dyne/cm^2) dan kecepatan geser (/sec). Pemeriksaan viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

3.4.7.6 Pengukuran Diameter Globul Rata-Rata

Diameter globul rata-rata diukur dengan menggunakan mikroskop optik yang dilengkapi dengan lensa okuler dan micrometer yang telah dikalibrasi. Krim diletakkan pada kaca objek dan ditutup dengan gelas penutup. Kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 40 kali, gambar yang diamati difoto dan diukur diameter globulnya.

3.4.8 Uji Stabilitas

3.4.8.1 Metode *Cycling Test*

Sampel krim disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus kemudian setiap tahapan diamati adanya pemisahan fase.

3.4.8.2 Suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sampel krim disimpan pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 12 minggu, lalu dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), pengukuran pH, dan pengukuran diameter globul rata-rata setiap 2 minggu, serta dilakukan pemeriksaan adanya adanya pemisahan fase.

3.4.8.3 Suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sampel krim disimpan pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 12 minggu, lalu dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), pengukuran pH, dan pengukuran diameter globul rata-rata setiap 2 minggu. Pengukuran viskositas dan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan ke-10, serta dilakukan pemeriksaan adanya adanya pemisahan fase.

3.4.8.4 Suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Krim disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 12 minggu, lalu dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), pengukuran pH, pengukuran diameter globul rata-rata untuk setiap 2 minggu, serta dilakukan pemeriksaan adanya adanya pemisahan fase.

3.4.8.5 Uji Sentrifugasi

Krim dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam sentrifugator pada kecepatan 3800 rpm selama 5 jam, lalu dilakukan pemeriksaan adanya pemisahan fase. Perlakuan tersebut sama dengan perlakuan adanya gaya gravitasi selama satu tahun.

3.4.9 Uji Perolehan Kembali (UPK) α -Mangostin dalam Sediaan

Larutan standar dibuat Sediaan ditimbang secara seksama sebanyak 1,0 g. Sediaan krim ditambahkan metanol p.a. 10 mL di dalam *sentrifuge tube*, lalu dikocok secara kuat, dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 jam, untuk mendapatkan pemisahan. Supernatan bening diambil dan ditempatkan pada labu tentukur 25,0 mL. Sediaan krim yang tersisa ditambahkan 10 mL metanol kembali, dikocok kuat dan disentrifugasi, untuk mendapatkan supernatan yang dicukupkan 25,0 mL. Larutan yang didapatkan dihitung kadar α -mangostin

dengan KLT densitometer sesuai prosedur 3.4.4.1-3.4.4.6 pada panjang gelombang 319 nm.

3.4.10 Uji Penetrasi α -Mangostin secara *In Vitro* menggunakan Sel Difusi Franz

3.4.10.1 Perlakuan Hewan Uji dan Persiapan Kulit Uji

Sediaan krim yang digunakan dalam uji daya penetrasi dilakukan secara triplo berjumlah 4. Satu tikus dapat digunakan bagian abdomennya untuk 2 pengujian penetrasi. Total tikus yang digunakan dalam pengujian ialah 12: 2 = 6 ekor tikus. Kulit yang digunakan untuk uji penetrasi kulit merupakan membran abdomen kulit tikus betina usia 8-9 minggu dengan berat $\pm 150-200$ g. Tikus dibius dengan eter hingga mati dan bulu tikus pada bagian abdominal dicukur hati-hati menggunakan pisau cukur. Kulit tikus pada bagian perut disayat, lalu kadaver tikus dikubur di dalam tanah. Lemak pada bagian subkutan yang menempel dihilangkan secara hati-hati, dan hasil sayatan tersebut direndam dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 selama 30 menit kemudian disimpan dalam suhu 4°C. Kulit dapat digunakan pada rentang waktu 24 jam. Cara pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4 dapat dilihat pada prosedur 3.4.5.1.

3.4.10.2 Uji Penetrasi Krim Liposom (Jia-You, Yann-Lii, Ying-Yue & Yi-Hung, 2002; Jia-You, Ying-Yue, Chi-Tzong & Wen-Ta, 2001)

Sel difusi franz digunakan dalam percobaan pelepasan obat. Tabung dialisis (berat molekul 8,000-14,000) ditempatkan antara kompartemen donor dan reseptor. Sel diberikan area difusi 1,52 cm² dan kompartemen reseptor sebesar 14 mL. Kompartemen reseptor diisi dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sekitar 14 mL yang dijaga suhunya sekitar 37 \pm 0,5°C serta diaduk dengan pengaduk magnetik dengan kecepatan 300 rpm. Setelah itu, kulit abdomen tikus diletakkan di antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor dengan sisi dermal berhubungan langsung dengan medium reseptor. Sampel sejumlah 1 gram diaplikasikan pada permukaan kulit. Kemudian ambil sampel pada menit ke-10, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480 sebanyak 0,5 mL dari kompartemen reseptor dengan

menggunakan *syringe* dan larutan dapar fosfat segera ditambahkan sejumlah volume yang sama dengan volume yang diambil. Kemudian, sampel dimasukkan ke dalam vial. Kandungan α -mangostin pada sampel reseptor dianalisis dengan metode KLT-densitometri.

3.4.10.3 Analisis Data Penetrasi Kulit

Jumlah akumulatif krim yang berpenetrasi terhadap waktu digunakan untuk menghitung fluks transdermal obat, yang diperoleh dari garis regresi terhadap porsi linear profil. Jumlah kumulatif α -mangostin yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dapat dihitung dengan rumus (Thakker dan Chern, 2003):

$$Q = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C.S}{A}$$

Keterangan:

Q	= Jumlah kumulatif α -mangostin per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
C_n	= Konsentrasi α -mangostin ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling menit ke-n
$\sum_{i=1}^{n-1} C.S$	= Jumlah konsentrasi α -mangostin ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling pertama (menit ke-10 hingga sebelum menit ke-n)
V	= Volume sel difusi Franz (μL)
S	= Volume sampling (500 μL)
A	= Luas area membran (cm^2)

Kemudian dilakukan perhitungan fluks (kecepatan penetrasi tiap satuan waktu) obat berdasarkan hukum Fick I:

$$J = \frac{M}{S \times t}$$

Keterangan:

J	= Fluks ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$)
S	= Luas area difusi (cm^2)
M	= Jumlah kumulatif α -mangostin yang melalui membran (μg)
T	= Waktu (jam)

3.4.11 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Fraksi, Krim Liposom, Krim tanpa Liposom, Krim Liposom setelah terpenetrasi, serta Krim tanpa Liposom setelah terpenetrasi dengan Metode Peredaman DPPH secara Spektrofotometri UV-Vis *Microplate Reader* (Li et al., 2012; Salazar-Aranda *et al.*, 2011)

Penentuan aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah manggis yang terdapat dalam sediaan krim pada penelitian ini menggunakan metode peredaman DPPH menggunakan *microplate reader*. Sampel yang digunakan adalah fraksi diklorometana dari kulit buah manggis, sediaan krim liposom konsentrasi 5%, 10% dan 15% (b/v); sediaan krim fraksi diklorometana (tanpa dibuat liposom). Larutan DPPH dalam dimetil sulfoksida (DMSO) 125 µg/mL ditambahkan ke dalam sampel pada konsentrasi yang berbeda (100 µl; 12,5–100,0 µg/mL). Larutan DPPH dicampur dan diinkubasi dalam keadaan gelap selama 30 menit pada suhu ruang. Serapan larutan tersebut diukur pada panjang gelombang 517 nm. Dalam penyiapan kurva kalibrasi untuk fraksi, digunakan berbagai konsentrasi larutan DPPH dalam DMSO-etanol (20-40 µg/mL). Sedangkan untuk kurva standar krim sebelum dan setelah terpenetrasi, digunakan berbagai konsentrasi larutan DPPH dalam DMSO-etanol (20.000-40.000 µg/mL). Konsentrasi DPPH (µg/mL) pada reaksi dihitung dari kurva kalibrasi yang telah dibuat sebelumnya.

Kemampuan aktivitas penangkapan radikal diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH. Nilai absorbansi/serapan diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100 \%$$

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Kulit Buah Manggis

Penelitian diawali dengan persiapan kulit buah manggis. Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) diperoleh dari buah manggis yang dikupas untuk memisahkan kulit buah manggis dengan daging buah manggis. Kulit buah manggis diiris tipis-tipis dan dikeringkan pada udara terbuka selama 7 hari. Setelah kulit buah manggis kering, dihaluskan menjadi serbuk dengan ukuran 100 mesh sehingga diperoleh serbuk dengan berat 1 Kg (Hyun-Ah *et al.*, 2006). Simplisia berupa serbuk berukuran 100 mesh digunakan pada proses ekstraksi. Hal tersebut dikarenakan luas permukaan simplisia yang lebih besar memungkinkan kontak simplisia dengan pelarut lebih tinggi sehingga lebih banyak senyawa kimia yang tersari ke dalam pelarut (Agoes, 2009).

Teknik yang dipilih untuk mengekstraksi simplisia serbuk kulit buah manggis pada penelitian ini dilakukan dengan cara dingin, yaitu maserasi menggunakan pelarut metanol teknis yang telah didestilasi. Metode ekstraksi secara panas tidak dilakukan pada kulit buah manggis, sebab suhu dapat berpengaruh langsung pada senyawa aktif antioksidan pada kulit buah manggis. Metode maserasi pada suhu kamar digunakan untuk ekstraksi kulit buah manggis memiliki keuntungan, yaitu mengurangi hilangnya pelarut dan mengurangi degradasi senyawa aktif antioksidan yang sensitif terhadap faktor panas (Satong-aun *et al.*, 2011).

Metanol digunakan sebagai pelarut utama dalam ekstraksi kulit buah manggis. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Misra *et al.* (2009), metanol merupakan pelarut terbaik yang digunakan untuk ekstraksi α -mangostin bila dibandingkan dengan kloroform, etil asetat, aseton dan etanol. Pelarut metanol menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, akan melarutkan zat aktif dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang

mengandung zat aktif dapat dikeluarkan dari sel. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi konsentrasi yang sama antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat kedua diharapkan dapat mempertinggi kontak antara pelarut dengan simplisia. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes, 2000).

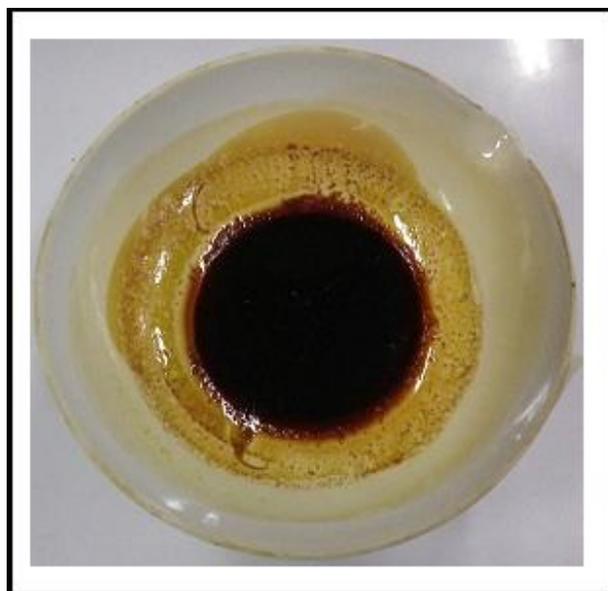
Tujuan dari fraksinasi menggunakan pelarut dengan polaritas yang berbeda untuk menghasilkan senyawa aktif yang lebih spesifik berdasarkan kelarutannya. Fraksi diklorometana (DCM) dari ekstrak metanol kulit buah manggis diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi karena mengandung xanton yang dominan (Hyun-Ah, Bao-Ning, Keller, Mehta dan Kinghorn, 2006).

Ekstrak kulit buah manggis memiliki kelarutan yang baik dalam pelarut n-heksana serta kloroform. Namun, kloroform bersifat toksik sehingga penggunaannya sebagai pelarut ekstraksi dibatasi (Reynolds, 1982). Oleh karena itu, pada penelitian ini dipilih diklorometana sebagai pelarut ekstraksi karena pelarut organik tersebut memiliki polaritas yang hampir sama dengan kloroform namun toksisitasnya lebih rendah. Selain itu diklorometana merupakan pelarut organik yang memiliki titik didih rendah, yaitu 39,5-40,5°C sehingga mudah menguap dan waktu pengeringan lebih cepat (Martindale, 2009).

4.1 Fraksinasi Ekstrak Metanol dari Kulit Buah Manggis

Fraksinasi pada ekstrak metanol kulit buah manggis menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana dan diklorometana. Tujuan menggunakan pelarut polaritas yang berbeda untuk menghasilkan senyawa aktif yang lebih sesuai berdasarkan sifat kelarutannya (Hyun-Ah, Bao-Ning, Keller, Mehta dan Kinghorn, 2006). Ekstrak kental metanol dari kulit buah manggis, dapat dilihat pada Gambar 4.1, ditambahkan aquademineralisata sebanyak 500 mL (yang telah dipanaskan sebelumnya hingga bersuhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$) untuk mengurangi kekentalan larutan ekstrak dimana ekstrak metanol larut di dalam air. Campuran ekstrak

metanol kulit buah dan aquademineralisata ditempatkan ke dalam corong pemisah, lalu dipartisi dengan penambahan 400 mL *n*-heksana p.a, dikocok secara pelan, lalu didiamkan.



Gambar 4.1 Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis

Setelah terjadi pemisahan, lapisan *n*-heksana diambil, pada lapisan metanol-air ditambahkan 400 mL *n*-heksana p.a kembali dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali agar memperoleh zat aktif yang lebih banyak. Pada tahap ini terbentuk dua lapisan larutan yaitu antara *n*-heksana pada bagian atas dan metanol-air pada bagian bawah. Pelarut *n*-heksana menarik senyawa nonpolar, sedangkan bagian metanol-air menarik senyawa polar. Lapisan *n*-heksana diambil dari corong pemisah, selanjutnya lapisan metanol-air dipartisi dengan penambahan 400 mL diklorometana p.a, lalu dikocok secara pelan, didiamkan sampai terjadi pemisahan. Lapisan diklorometana diambil, lapisan metanol-air ditambahkan lagi dengan 400 mL diklorometana p.a (pengulangan sebanyak dua kali). Pada tahapan tersebut terbentuk dua lapisan larutan yaitu bagian diklorometana pada bagian bawah dan *n*-heksana pada bagian atas. Larutan fraksi diklorometana ditampung dalam cawan penguap dan ditutup dengan aluminium foil, lalu didiamkan selama dua hari dalam lemari asam

sampai semua pelarut diklorometana menguap dan dihasilkan lapisan kering. Penggunaan aluminium foil dimaksudkan untuk menghindari terjadinya oksidasi pada fraksi diklorometana ekstrak metanol dari kulit buah manggis.

Saat penambahan pelarut organik pada proses fraksinasi, waktu yang diperlukan untuk pemisahan antara partisi *n*-heksana p.a. dengan partisi metanol-air, maupun partisi DCM dengan partisi *n*-heksana p.a. ialah 4-5 jam. Hal tersebut dikarenakan ukuran serbuk simplisia KBM terlalu kecil (100 mesh) sehingga terlihat mengambang di bagian atas pelarut simplisia yang digunakan berupa serbuk berukuran 100 mesh. Ukuran simplisia yang ideal mungkin ialah 20 mesh sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Pothitirat dan Gritsanapan (2008). Penghilangan pelarut dilakukan dengan cara membiarkan pelarut menguap secara alami (tanpa rotavapor) bertujuan agar suhu panas tidak merusak senyawa yang bersifat antioksidan dalam serbuk fraksi. Pemanasan pada penangas air memungkinkan terjadinya penurunan aktivitas antioksidan pada fraksi diklorometana. Lapisan kering dari fraksi diklorometana digerus untuk memperoleh serbuk kuning. Secara keseluruhan dari ekstrak kental metanol sebanyak 166,6 gram dihasilkan serbuk kuning fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit buah manggis sebanyak 31,56 gram.

4.2 Evaluasi Serbuk Fraksi Diklorometana dari Kulit Buah Manggis

4.2.1 Uji Fitokimia

Berdasarkan uji fitokimia, fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit buah manggis mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, antrakuinon, terpenoid. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Miryanti dkk. (2011) dan Ardiani (2012). Kadar air yang terkandung dalam fraksi diklorometana ialah 1,85%. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi mengandung sedikit air sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi yang didapatkan pada penelitian tergolong baik karena kurang dari 10%.

4.2.2 Penetapan Kadar α -Mangostin pada Fraksi Diklorometana Kulit Buah Manggis secara KLT densitometri

Penetapan kadar α -mangostin pada fraksi diklorometana kulit buah manggis dilakukan dengan metode KLT densitometri. Sebelumnya dibuat kurva kalibrasi dengan larutan standar α -mangostin (dengan tingkat kemurnian 98%) pada lempeng KLT yang sama dengan sampel fraksi diklorometana. Bejana yang akan digunakan dalam proses pengembangan, harus dijenuhkan terlebih dahulu dengan eluen yang digunakan (kloroform: etil asetat = 8,5 : 1,5). Lempeng yang selesai dielusikan, lalu diamati dengan TLC scanner CAMAG III dengan lampu D2 dan diamati dengan panjang gelombang 319 nm.

Untuk membuat kurva kalibrasi, sumbu x adalah konsentrasi standar dan sumbu y adalah luas puncak yang didapat. Persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = 11656x + 1423,7$ dengan nilai koefisien korelasi $r = 0,982$. Nilai koefisien korelasi tersebut dapat dianggap sebagai linier karena nilainya mendekati 1. Konsentrasi sampel yang didapat berturut-turut ialah 78,14; 74,56; 76,54 % dengan nilai rata-rata ialah $76,41 \pm 1,79$ %. Kurva kalibrasi untuk penetapan kadar α -mangostin dalam fraksi diklorometana kulit buah manggis dapat dilihat pada lampiran 5.

4.3 Pembuatan Liposom

Pada penelitian ini dibuat liposom triplo dengan formula perbandingan fosfatidilkolin terhadap kolesterol yaitu 6: 1 berdasarkan perhitungan molaritas. Hal tersebut berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (Wenny, 2012) bahwa ini ditujukan untuk melihat pengaruh jumlah kandungan fosfatidilkolin terhadap persentase penyerapan sehingga diperoleh formula yang terbaik. Metode yang digunakan untuk membuat liposom yaitu hidrasi lapis tipis yang merupakan metode paling umum digunakan dalam pembuatan liposom. Metode tersebut terdiri dari dua tahap, yaitu tahap pembentukan lapisan tipis dan tahap hidrasi menggunakan larutan dapar fosfat pH 7,4 dikombinasikan dengan tween 80.

Tahap pertama yang dilakukan dalam pembuatan lapis tipis liposom yaitu melarutkan bahan pembentuk liposom dan fraksi diklorometana secara bersamaan

dalam diklorometana. Serbuk fraksi diklorometana dilarutkan dalam diklorometana karena tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam pelarut organik. Kondisi vakum diperlukan dalam proses pembuatan lapis tipis liposom yang baik karena berperan mempercepat penguapan pelarut, tetapi pompa vakum tidak dinyalakan secara terus-menerus agar diklorometana tidak cepat habis menguap. Lapis tipis harus terbentuk merata agar pada saat proses hidrasi permukaan lipid yang kontak dengan dapar fosfat pH 7,4 lebih luas sehingga mempengaruhi terbentuknya vesikel-vesikel liposom yang bersifat spontan dan lapis tipis mudah terkelupas. Untuk membentuk lapis tipis yang merata, kecepatan *rotavapor* ditingkatkan secara bertahap dimulai dari 50 rpm sampai 150 rpm. Kecepatan rotasi ditingkatkan bila sudah lapisan tipis lebih merata. Peningkatan kecepatan dilakukan setiap 10 rpm, dibiarkan selama sekitar 5-10 menit bagi alat rotavapor agar stabil sebelum peningkatan kecepatan selanjutnya untuk menghindari *error* pada *rotavapor*. Suhu yang digunakan untuk pembuatan liposom adalah 40°C, dimaksudkan untuk menjaga kandungan antioksidan di dalam serbuk fraksi diklorometana kulit buah manggis. Lapis tipis yang telah terbentuk selanjutnya dialiri gas nitrogen yang bersifat *inert* secara merata untuk mencegah lipid teroksidasi dan disimpan pada 4°C selama 24 jam agar penguapan diklorometana dapat terjadi secara sempurna sehingga tidak mengganggu proses hidrasi (Mitkari, Korde, Mahdik dan Kokare, 2010).

Pada proses hidrasi ditambahkan tween 80 sebanyak 3% sebagai agen pembasah ke dalam pelarut dapar fosfat pH 7,4 agar dapat menurunkan sudut kontak pada fraksi diklorometana terhadap pelarut yaitu dapar fosfat pH 7,4. Fraksi diklorometana memiliki sudut kontak yang besar sehingga sulit terbasahi pelarut. Oleh karena itu, penambahan surfaktan seperti tween 80 dapat menurunkan sudut kontak fraksi diklorometana terhadap pelarut dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga fraksi diklorometana dapat terbasahi.

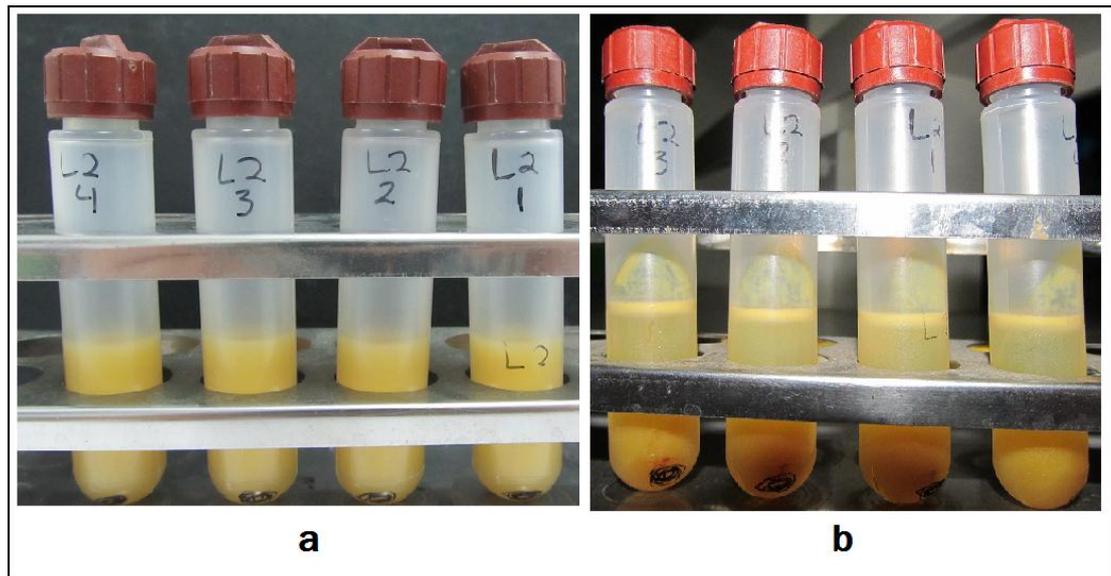
Penambahan tween sebanyak 3% dalam formulasi liposom menghasilkan suspensi liposom yang homogen dan baik, selain itu peranan surfaktan nonionik yaitu tween 80 dalam liposom dapat menstabilkan lapisan lipid bilayer dan mengurangi rigiditasnya menjadi lebih fleksibel sehingga meningkatkan penetrasi

pada kulit untuk penggunaan topikal dibandingkan dengan liposom tanpa surfaktan (Badran, Shalaby, dan Al-Omrani, 2011).

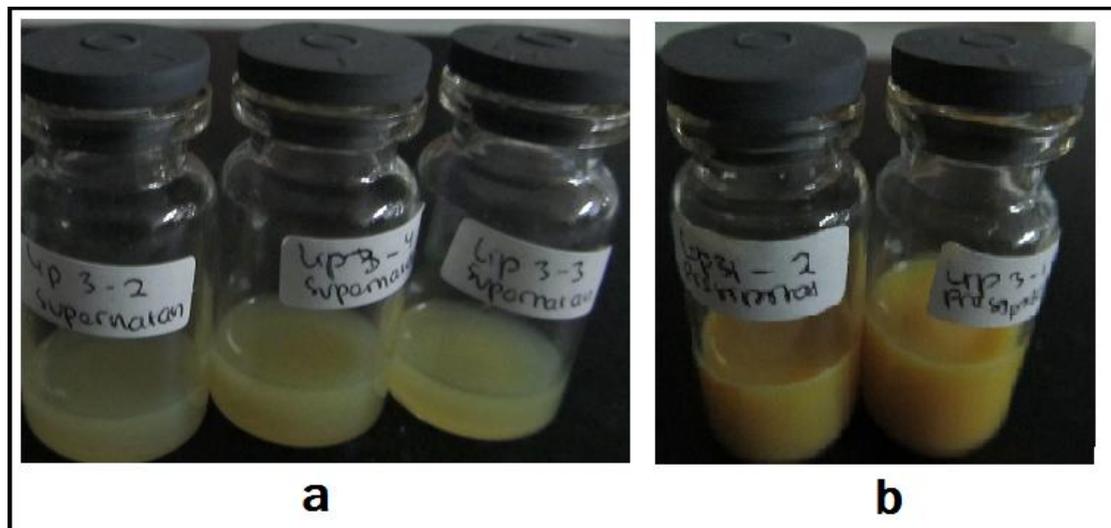
Pada proses hidrasi lipid lapis tipis dilakukan dalam keadaan tidak vakum dan dibantu dengan *glass beads* agar membantu pengelupasan dan membuat suspensi liposom lebih homogen. Setelah diperoleh suspensi liposom yang homogen kemudian disimpan dalam lemari pendingin selama 24 jam untuk menyempurnakan pembentukan globul-globul liposom.

4.4 Pemurnian Liposom

Pemurnian liposom dilakukan dengan proses ultrasentrifugasi yaitu dengan kecepatan 30.000 rpm selama 1 jam dalam keadaan vakum. Pemurnian yang baik ditandai dengan terlihat jelas pemisahan antara presipitat dan supernatan yang jernih. Supernatan yang jernih berarti mengandung zat aktif tidak terjerap, selanjutnya dilakukan pengukuran persentase penjerapan. Jika supernatan tampak keruh berarti masih ada liposom di dalam supernatan, hal ini akan mempengaruhi hasil perhitungan menjadi tidak akurat. Pada tahapan ultrasentrifugasi dilaksanakan dalam keadaan vakum agar membantu proses pemisahan antara presipitat dan supernatan lebih sempurna. Hasil pemurnian liposom dapat dilihat pada Gambar 4.2a dan supernatan (Gambar 4.3a) yang telah dipisahkan dari presipitat (Gambar 4.3) liposom.



Gambar 4.2. Pemurnian Liposom. (a) Liposom yang belum diultrasentrifugasi. (b) Supernatan dari liposom yang sudah terpisah dari bagian presipitat.



Gambar 4.3. Supernatan hasil pemisahan liposom (a) dan presipitat liposom (b).

4.5 Evaluasi Liposom

4.5.1 Distribusi Ukuran Partikel Liposom

Liposom yang dibuat triplo dianalisis dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk dilihat distribusi ukuran partikelnya. Distribusi ukuran liposom sebelum sonikasi memiliki ukuran beragam. Distribusi ukuran diameter partikel liposom I

sebanyak 90% (d_{90}) mengalami penurunan setelah dilakukan sonikasi, yaitu d_{90} 11,65 menjadi 4,72, dan rata-rata diameter partikel liposom I sebesar $3,759 \pm 4,145 \mu\text{m}$ menjadi $2,017 \pm 1,987 \mu\text{m}$ (Lampiran 4). Liposom II dan III tidak mengalami perubahan ukuran partikel yang signifikan setelah disonikasi, berdasarkan d_{90} dan rata-rata diameter partikel berturut-turut yaitu 9,37 menjadi 9,18 μm ; dan $5,798 \pm 2,533$ menjadi $5,641 \pm 2,562 \mu\text{m}$; $6,693 \pm 3,388,5 \mu\text{m}$ menjadi $7,48 \pm 3,031 \mu\text{m}$ (Lampiran 5 dan 6). Setelah dilakukan tahapan sonikasi, distribusi ukuran liposom lebih seragam dibandingkan sebelum sonikasi dan ukuran liposom menjadi lebih homogen yang ditunjukkan dengan sebuah *peak* pada hasil PSA.

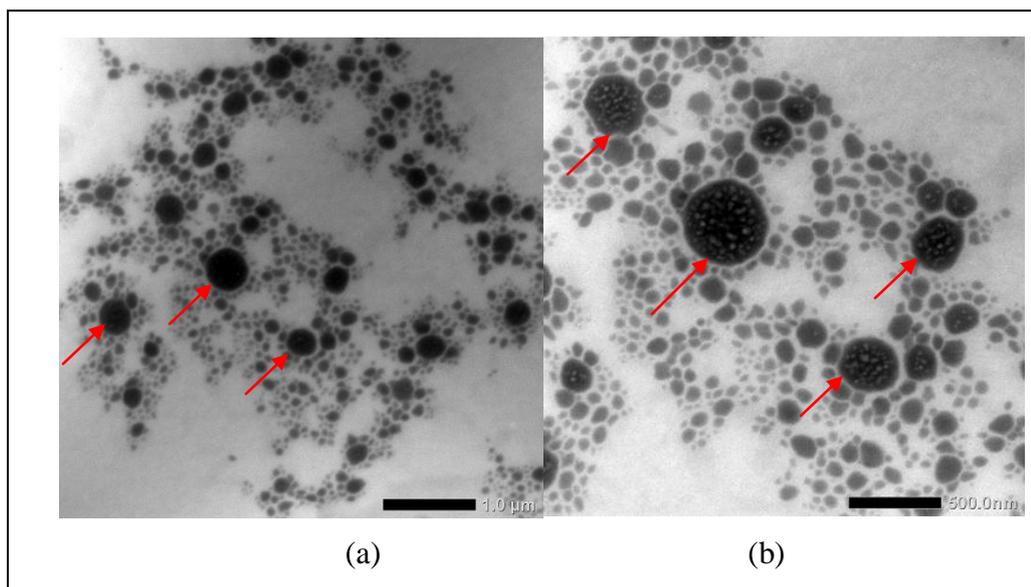
Berdasarkan perubahan ukuran partikel yang tidak signifikan pada liposom yang sudah disonikasi, dapat disimpulkan bahwa teknik *bath-sonication* (sonikasi menggunakan *bath*) yang dilakukan pada penelitian tidak memberikan pengaruh terhadap ukuran partikel liposom. Hal tersebut dikarenakan pemaparan energi kinetik terhadap suspensi liposom terjadi secara tidak efisien dalam *water bath*. Kecepatan sonikasi yang dilakukan tidak cukup untuk memperkecil ukuran partikel liposom. Menurut Hussein, (2010), sonikasi menggunakan *probe* (*probe-sonication*) memiliki efisiensi transfer energi lebih baik pada liposom daripada *bath-sonication*. Semakin kecil wadah ditempatkannya sampel (suspensi liposom), maka efisiensi pemaparan energi terhadap sampel lebih tinggi.

Berdasarkan hasil PSA, liposom yang dibuat dalam penelitian ini termasuk jenis LUV (*Large Unilamellar Vesicles*) karena hanya tampak sebuah lamelar dan berukuran berkisar lebih dari 1 μm . Hal tersebut sesuai dengan literatur, bahwa liposom unilamellar besar terdiri dari membran lipid bilayer dengan lamellar terkonsentris, ukurannya berkisar 0,1- 1,0 μm (Swarbrick, 2007).

4.5.2 Morfologi Bentuk Vesikel

Presipitat dari liposom yang memiliki penjerapan tertinggi dilakukan evaluasi morfologi vesikel menggunakan TEM (*Transmission Electron Microscope*). Hasil evaluasi menggunakan TEM perbesaran 5.000 dan 10.000.

Pada hasil TEM, terlihat bentuk vesikel bulat dengan ukuran bervariasi dan tampak bagian lamelar pada liposom. Agregasi antar globul presipitat liposom dapat terjadi akibat partikel berukuran kecil memiliki kecenderungan untuk beragregasi sehingga akan membentuk ukuran partikel yang lebih besar (Kendall dan Kosseva, 2006). Tetapi secara fisik, morfologi presipitat liposom ini memiliki bentuk yang baik. Hasil dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Keterangan : a. Morfologi liposom perbesaran 5.000x
 b. Morfologi liposom perbesaran 10.000x
 Anak panah menunjukkan liposom

Gambar 4.4. Hasil TEM pada liposom (ukuran berkisar 200-400 nm).

4.5.3 Efisiensi Penjerapan Liposom Mengandung Fraksi Diklorometana ekstrak metanol kulit buah manggis

Liposom yang telah dimurnikan dengan ultrasentrifugasi pada kecepatan 30.000 rpm selama 30 menit menghasilkan presipitat dan supernatan. Supernatan diambil menggunakan *syringe* kemudian diletakkan dalam vial. Supernatan tersebut diuji dengan menggunakan KLT untuk mengetahui efisiensi penjerapannya. Penentuan konsentrasi supernatan dan konsentrasi total ketiga liposom dilakukan dengan metode KLT densitometri sesuai dengan prosedur yang tertera pada prosedur 3.4.5. Persamaan regresi linear pada kurva kalibrasi α -

mangostin dalam perhitungan efisiensi penyerapan, yaitu $y = 11656x + 1423,7$; nilai koefisien korelasi (r) ialah 0,982 sesuai dengan Lampiran 5. Efisiensi penyerapan liposom pertama, ke-2 dan ke-3 ialah 51,74 %; 74,43 % dan 77,085 %.

4.6 Pembuatan Sediaan Krim Liposom dan Krim Fraksi yang setara dengan krim liposom 15%

Sediaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan krim karena memiliki beberapa keuntungan antara lain, mudah dicuci dan dihilangkan dari kulit dan pakaian, tidak berminyak, mempercepat pelepasan zat aktif karena mengandung air dalam jumlah banyak, menurunkan tegangan permukaan kulit sehingga absorpsi lebih optimal, mudah dioleskan, tidak lengket dan sediaan yang paling sesuai untuk bahan pelembab (Lachman *et al.*, 1994). Basis krim yang digunakan dalam pembuatan krim liposom adalah *vanishing cream* yaitu krim yang tergolong emulsi minyak dalam air (o/w). *Vanishing cream* lebih banyak disukai pada penggunaan sehari-hari karena memiliki keuntungan yaitu memberikan efek dingin pada kulit, tidak berminyak serta memiliki kemampuan penyebaran yang baik. Jenis krim minyak dalam air memiliki karakteristik bioadhesif dalam liposom diharapkan dapat meningkatkan penghantaran obat dan telah dibuktikan bahwa liposom kompatibel dengan polimer asam akrilat (Pavelic, Skalko-Basnet dan Schubert., 2001).

Dalam formulasi basis krim, asam stearat bersifat sebagai bahan pengeras. Isopropil miristat (IPM) dan setil alkohol berfungsi sebagai emolien yang dapat meningkatkan stabilitas, memperbaiki tekstur, dan konsistensi meningkat. Emolien memiliki sifat meningkatkan penyerapan dan retensi pada epidermis, sehingga daya penetrasi pada kulit dapat meningkat. Gliserin monostearat (GMS) sebagai emulgator dan trietanolamin (TEA) sebagai pembentuk TEA-Stearat. TEA bila dicampurkan dengan asam stearat akan membentuk sabun anionik yang dapat berguna sebagai pengemulsi pada pembentukan emulsi minyak dalam air (M/A) yang stabil. Propilen glikol sebagai humektan, juga dapat melarutkan senyawa fenol seperti α -mangostin. Natrium metabisulfit sebagai antioksidan yang dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi pada basis krim. Metil paraben

dan propil paraben berperan sebagai pengawet antimikroba sehingga mencegah adanya pertumbuhan jamur dan mikroorganisme.

Pemanasan sampai suhu 70°C pada saat campuran bahan-bahan fase air (metil paraben, trietanolamin, propilen glikol, natrium-metabisulfit) dimaksudkan untuk mempercepat kelarutan bahan-bahan fase air. Penggunaan aquademineralisata bebas karbondioksida bertujuan untuk menghilangkan kandungan mineral yang dapat mempengaruhi dengan aktivitas antioksidan pada zat aktif dan mencegah penurunan pH sehingga sediaan menjadi asam. Pencampuran bahan-bahan fase minyak (asam stearat, setil alkohol, isopropil miristat, gliseril monostearat, propil paraben) juga dilakukan pada suhu 70°C untuk melelehkan bahan-bahan fase minyak sehingga berada dalam satu fase, yang kemudian ditambahkan campuran bahan-bahan fase air, untuk mendapatkan basis krim M/A. Pada proses homogenisasi basis krim digunakan homogenizer dengan kecepatan 500-1000 rpm yang ditingkatkan secara bertahap sampai homogen.

Basis krim dibiarkan dingin sebelum ditambahkan presipitat liposom dimaksudkan agar mencegah pelelehan lipid pada vesikel liposom. Pencampuran presipitat liposom dengan basis krim dilakukan secara triturasi untuk mendapatkan sediaan krim liposom yang homogen. Teknik triturasi digunakan dalam penelitian ini karena ukuran liposom yang kecil sehingga mencegah terjadinya ketidakhomogenan pada saat pencampuran basis krim dan liposom. Penggunaan *homogenizer* dengan kecepatan rendah (50 rpm) setelah teknik triturasi dilakukan untuk membantu liposom tetap homogen di dalam basis krim.

4.7 Evaluasi Sediaan

Sediaan krim yang telah dibuat dengan konsentrasi liposom 5%, 10% dan 15% segera dilakukan evaluasi untuk membandingkan keadaan setiap sediaan sebelum dan sesudah dilakukan uji stabilitas dengan parameter fisik yang dapat menunjukkan sifat stabilitas sediaan selama penyimpanan.

4.7.1 Distribusi Ukuran Globul Krim liposom

Sediaan krim liposom dengan konsentrasi liposom 5%, 10% dan 15% dianalisis dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk dilihat distribusi ukuran vesikelnya. Berdasarkan hasil PSA, distribusi ukuran vesikel sediaan krim liposom 5% ialah 46,16 μm , krim liposom 10% ialah 46,10 μm , sedangkan krim liposom 15% ialah 45,40 μm , krim fraksi setara 15% ialah 31,92 μm . Ukuran vesikel sediaan liposom menjadi lebih besar bila dibandingkan dengan ukuran vesikel presipitat liposom (sekitar 1-8 μm). Hal tersebut dapat dimungkinkan karena ukuran partikel bahan-bahan basis krim memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan ukuran partikel liposom. Data dapat dilihat pada Lampiran 7-10.

4.7.2 Pengamatan Homogenitas dan Organoleptis

Krim liposom dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% pada penyimpanan berbagai suhu yaitu suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$), suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$) untuk diamati homogenitas dan organoleptis. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak terjadi pemisahan fase dan terlihat homogen. Hal tersebut mungkin karena basis krim dan liposom telah tercampur secara homogen.

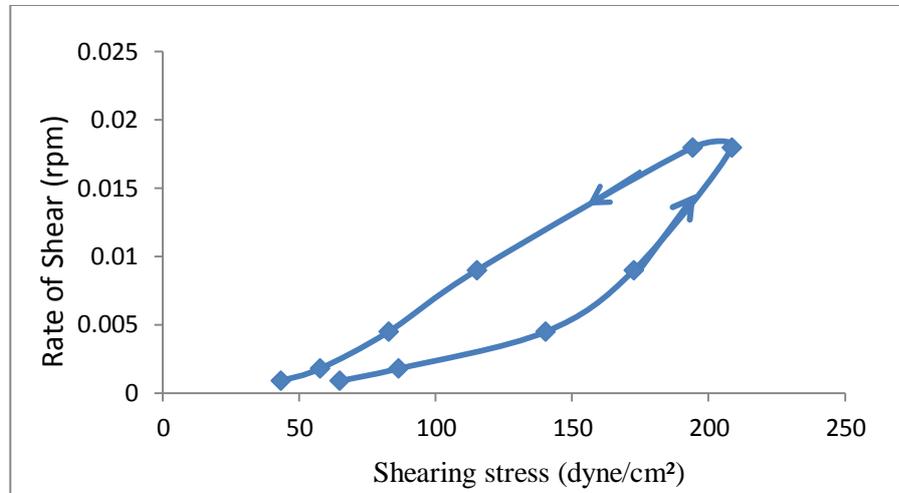
4.7.3 Pengukuran pH

Tingkat keasaman sediaan krim liposom diukur menggunakan pH-meter. Nilai pH sediaan krim 5%, 10% dan 15% pada minggu ke-0 berturut-turut, yaitu 6,17; 6,25; 6,18. Ketiga sediaan krim tersebut berada dalam rentang pH kulit yaitu 4,5 dan 6,5. Sediaan-sediaan krim yang dibuat dalam penelitian ini memiliki nilai pH yang sesuai dengan pH kulit.

4.7.4 Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan alat Viskometer Brookfield dengan spindel 5. Hasil pengukuran viskositas sediaan krim blanko, liposom 5%, 10% dan 15% pada suhu kamar ($29^\circ \pm 2^\circ\text{C}$) pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Lampiran 16, 18, 20, dan 22. Nilai viskositas sediaan krim blanko dan krim liposom 5%, 10%, 15% dan blanko dengan spindel 5 pada kecepatan 20 rpm berturut-turut adalah 17600 cps, 11.600 cps, 8.000 cps, dan 7200 cps. Hasil

pengukuran tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi liposom dalam sediaan krim, maka semakin rendah nilai viskositas sediaanannya.



Gambar 4.5. Rheogram sediaan krim liposom 5% pada minggu ke-0

Pengamatan pada viskositas dapat disimpulkan bahwa ketiga formula krim liposom dengan konsentrasi yang berbeda memiliki sifat pseudoplastis tiksotropik. Penentuan sifat alir pada ketiga krim liposom tersebut dalam kategori tiksotropik karena pada kurva terlihat adanya penurunan kurva di sebelah kiri kurva yang menaik. Hal tersebut menunjukkan bahwa krim liposom 5%, 10% dan 15% memiliki konsistensi lebih rendah pada setiap *rate of shear*. Hal ini menandakan adanya perubahan struktur yang tidak kembali ke keadaan semula apabila tekanan dihilangkan atau dikurangi. Indikasi tersebut merupakan sifat aliran tiksotropik. Tiksotropik adalah suatu sifat yang diharapkan dalam suatu sediaan, yaitu memiliki konsistensi yang tinggi dalam wadah, namun dapat dituang dan tersebar dengan mudah. Sifat alir tiksotropik merupakan sifat alir yang diharapkan dalam suatu sediaan krim, karena diharapkan sediaan krim memiliki penetrasi yang baik ke dalam kulit (Martin et al. 1969).

Sifat alir tiksotropik umumnya dijumpai pada zat yang memiliki aliran plastik dan pseudoplastik. Sediaan krim liposom dan krim blanko memiliki aliran pseudoplastik. Viskositas aliran pseudoplastik berkurang dengan meningkatnya

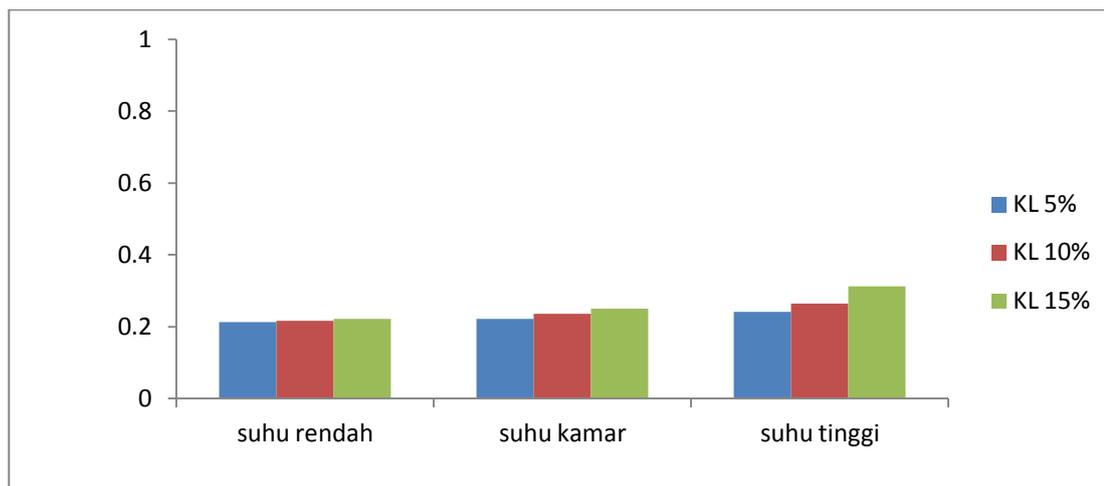
rate of shear. Rheogram lengkung yang berbentuk pada bahan-bahan yang bersifat pseudoplastik tersebut disebabkan adanya aksi shearing terhadap molekul. Sediaan dengan aliran pseudoplastik tidak memiliki bagian yang linear sehingga tidak memiliki harga viskositas yang absolut (Martin *et al.*, 1969).

4.7.5 Pengukuran Konsistensi

Hasil pengukuran konsistensi dari sediaan krim liposom pada suhu kamar minggu ke-0 dapat dilihat pada Lampiran 46. Dari pengukuran konsistensi akan diperoleh *yield value* yang menunjukkan daya sebar sediaan tersebut. Sediaan yang baik memiliki *yield value* 100-1000 dyne/cm² (Zats dan Kushla, 1996). Semakin tinggi *yield value*, maka suatu sediaan semakin sulit menyebar. Sebaliknya, semakin rendah *yield value*, maka semakin mudah menyebar. Kedalaman penetrasi sediaan krim blanko, liposom 5%, 10%, 15% pada minggu ke-0 berturut-turut adalah 374 1/10 mm, 361 1/10 mm, 377 1/10 mm, dan 362 1/10 mm. Dari kedalaman penetrasi kerucut tersebut, dapat diperoleh *yield value* pada sediaan krim blanko, liposom 5%, 10%, 15% di minggu ke-0 berturut-turut adalah 2639,16 dyne/cm², 2832,66 dyne/cm², 2597,32 dyne/cm², dan 2817 dyne/cm². *Yield value* tersebut menunjukkan bahwa sediaan krim blanko, krim liposom 5%, 10%, 15% yang telah dibuat pada penelitian merupakan sediaan krim yang tidak mudah tersebar.

4.7.6 Pengukuran Diameter Globul Rata-rata

Ukuran diameter globul pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan ukuran diameter globul sesuai dengan kisaran 0,5-50 µm untuk emulsi dengan ukuran diameter globul 0,01-0,08 µm (Riskiana, 2004). Bentuk serta ukuran globul dipengaruhi oleh berbagai faktor yang terjadi selama proses pembuatan krim seperti pencampuran, pengadukan, atau jumlah emulgator yang digunakan saat pembuatan sediaan krim. Data diameter globul rata-rata dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6. Data Diameter Globul Krim Liposom pada Minggu ke-0

4.8 Uji Stabilitas Fisik Sediaan Krim

Uji stabilitas fisik sediaan krim dilakukan dengan cara menyimpan sediaan krim pada 3 suhu yang berbeda, yaitu suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$). Penyimpanan sediaan krim dilakukan selama 12 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis, homogenitas, pH setiap 2 minggu. Uji tersebut dimaksudkan untuk mengetahui stabilitas fisik sediaan selama penyimpanan pada 3 suhu yang berbeda. Untuk pengukuran viskositas, sifat alir dan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 terhadap sediaan krim yang disimpan pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$). Pengukuran rata-rata sediaan krim diukur pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 terhadap sediaan krim yang disimpan pada tiga suhu yang berbeda.

Evaluasi fisik juga dilakukan pada sediaan krim menggunakan *cycling test*, yaitu masing-masing sediaan krim disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) secara bergantian masing-masing selama 24 jam sebanyak 6 siklus. Kestabilan fisik diamati di setiap sediaan krim sebelum dan sesudah *cycling test*. Sediaan krim juga dilakukan uji sentrifugasi/mekanik untuk mengetahui pemisahan fase dari fase minyak dan fase air. Uji mekanik dilakukan dengan menggunakan sentrifugator dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam.

4.8.1 Penyimpanan pada Suhu Rendah, Kamar dan Tinggi

Sediaan krim liposom 5%, 10% dan 15% disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 12 minggu untuk diukur pH dan diameter globul, serta diamati homogenitas dan organoleptis. Hal tersebut sesuai dengan jangka waktu minimum untuk pengujian produk obat berdasarkan peraturan *International Conference on Harmonisation* (FDA AS, 2003). Namun jangka waktu yang direkomendasikan untuk pengujian produk obat termasuk kosmetik ialah 6 bulan. Rentang suhu kamar yang digunakan dalam penelitian ini masih berada dalam suhu yang ditetapkan untuk pengujian stabilitas di Indonesia yaitu 30°C (WHO, 2009).

4.8.1.1 Pengamatan Homogenitas dan Organoleptis

Krim liposom dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% pada penyimpanan berbagai suhu yaitu suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) untuk diamati homogenitas dan organoleptis selama 12 minggu tidak terjadi pemisahan fase dan terlihat homogen. Hal tersebut mungkin karena basis krim dan liposom telah tercampur secara homogen, serta kandungan emulgator dalam sediaan cukup untuk membuat emulsi krim stabil.

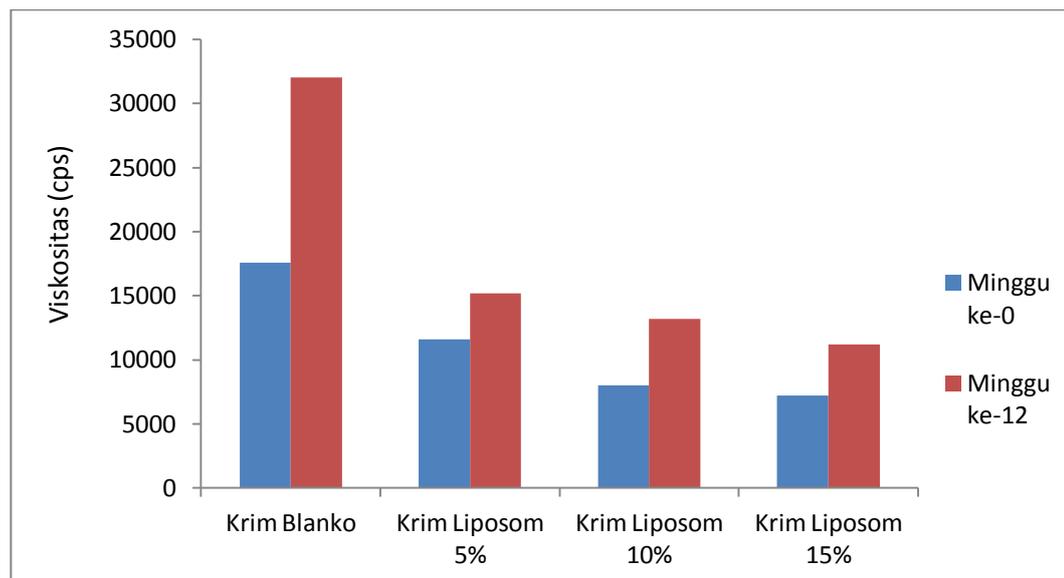
Perubahan warna dan tekstur cukup terlihat terjadi pada penyimpanan krim liposom pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) dimana warna krim terlihat lebih pucat. Hal tersebut dapat terjadi karena kenaikan suhu setiap 10°C dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia sebanyak 2-3 kali. (Djajadisastra, 2003). Kemungkinan penyebab lainnya dapat dikarenakan terjadinya degradasi fosfatidilkolin (lesitin) sehingga kerja surfaktan pada lesitin tidak dapat berfungsi secara optimal sebagai bahan yang dapat menjembatani fase air dan fase minyak pada sediaan krim (Rowe *et al*, 2009). Hasil dapat dilihat pada Lampiran 34-36.

4.8.1.2 Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir

Masing-masing sediaan yang telah disimpan selama 12 minggu pada suhu kamar, lalu diukur viskositasnya. Grafik hasil pengukuran viskositas sediaan krim blanko, liposom 5%, 10% dan 15% pada suhu kamar ($29^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$) pada

minggu ke-12 dapat dilihat pada Lampiran 20, 22, 24, dan 26. Berdasarkan hasil pengamatan viskositas selama periode waktu penyimpanan sediaan krim liposom memiliki nilai viskositas yang meningkat seperti yang diperlihatkan dalam Gambar 4.7.

Viskostas sediaan krim liposom mengalami kenaikan pada minggu ke-12. Kenaikan nilai viskositas sediaan krim blanko dan krim liposom 5%, 10%, 15% dengan spindel 5 pada kecepatan 20 rpm berturut-turut adalah 17.600 cps menjadi 32.000 cps, 11.600 cps menjadi 15.200 cps, 8.000 cps menjadi 13.200 cps, 7.200 cps menjadi 11.200 cps. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada minggu ke-0 setelah sediaan krim dibuat, struktur molekul krim masih acak akibat putaran menggunakan kecepatan tinggi saat proses pembuatan, namun saat disimpan selama 12 minggu, struktur molekul krim kembali pada susunan semula. Kemungkinan penyebab kenaikan viskositas krim liposom pada minggu ke-12 lainnya dapat dikarenakan adanya gliseril monostearat yang diketahui dapat melarutkan fosfolipid (lesitin). Interaksi antara bahan basis krim (gliseril monostearat) dan bahan pembuat liposom (lesitin) memungkinkan viskositas krim liposom menjadi naik pada minggu ke-12 (dibandingkan dengan minggu ke-0), sehingga krim liposom menjadi lebih sulit untuk mengalir. Kandungan setil alkohol di dalam formulasi basis krim, juga telah diketahui dapat meningkatkan viskositas sediaan emulsi (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).



Gambar 4.7. Viskositas krim liposom pada minggu ke-0 dan minggu ke-12

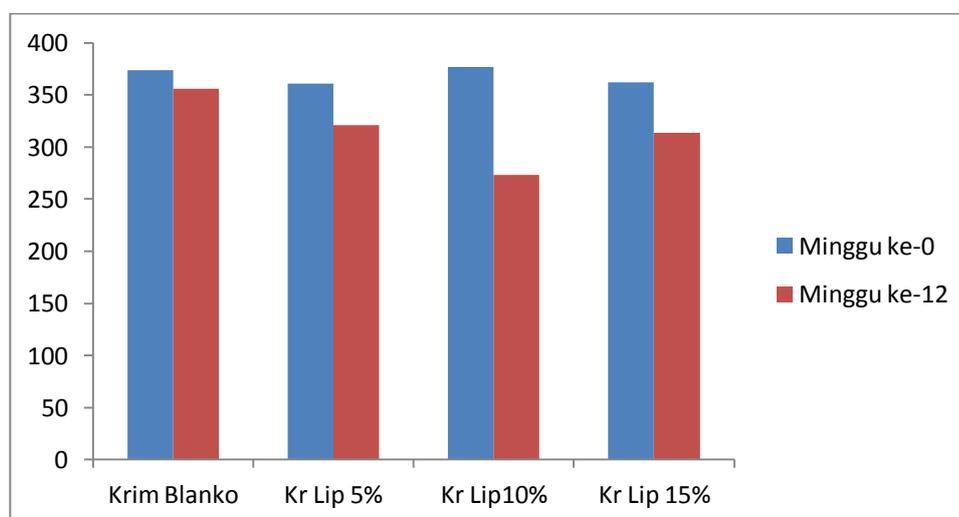
Viskositas suatu sediaan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah faktor pencampuran atau pengadukan saat proses pembuatan sediaan, pemilihan zat pengental dan surfaktan (Ansel, 1989). Sifat alir krim atau viskositas mengalami penurunan dari krim liposom 5% sampai krim liposom 15%. Namun hal tersebut pada penelitian ini diiringi dengan kenaikan konsentrasi liposom. Semakin besar konsentrasi liposom dalam sediaan krim, semakin besar penurunan tingkat viskositas pada minggu ke-12.

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan alat Viskometer Brookfield dengan spindel 5. Hasil rheogram menunjukkan sifat alir sediaan krim ketiga konsentrasi yang telah disimpan selama 12 minggu pada suhu kamar menunjukkan tidak terjadinya perubahan sifat alir. Sifat alir sediaan krim liposom tetap memiliki sifat alir pseudoplastik tiksotropik. Dapat disimpulkan bahwa sediaan krim liposom 5%, 10% dan 15% bersifat stabil setelah penyimpanan pada suhu kamar selama 12 minggu.

4.8.1.3 Pengukuran Konsistensi

Hasil pengukuran konsistensi dari sediaan krim liposom pada suhu kamar minggu ke-12 dapat dilihat pada Lampiran 46. Kedalaman penetrasi sediaan krim

blanko, 5%, 10%, 15% pada minggu ke-12 berturut-turut adalah 356 1/10 mm (2912,78 dyne/cm²), 321 1/10 mm (3582 dyne/cm²), 273 1/10 mm (4953,17 dyne/cm²), dan 314 1/10 mm (3744,11 dyne/cm²). Dari Gambar 4.8 dapat diketahui bahwa terdapat penurunan nilai kedalaman penetrasi kerucut atau kenaikan konsistensi dari masing-masing konsentrasi sediaan krim liposom. Hal tersebut berbanding lurus dengan hasil pengukuran viskositas sediaan krim liposom yang makin kental. Semakin kental sediaan krim, maka kerucut akan semakin sulit untuk menembus sediaan sehingga kedalaman penetrasi kerucut semakin rendah.



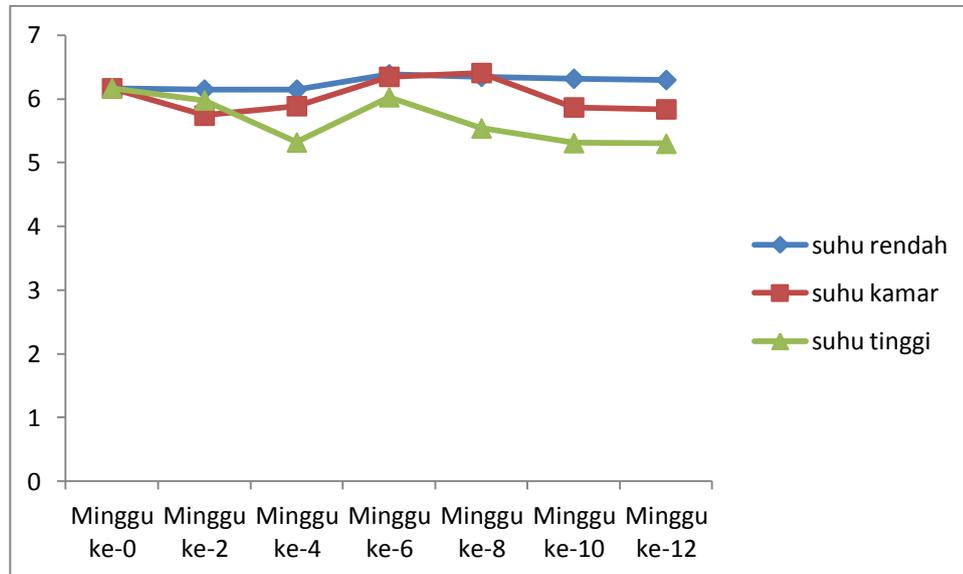
Gambar 4.8. Konsistensi krim liposom pada minggu ke-0 dan minggu ke-12

4.8.1.4 Pengukuran pH

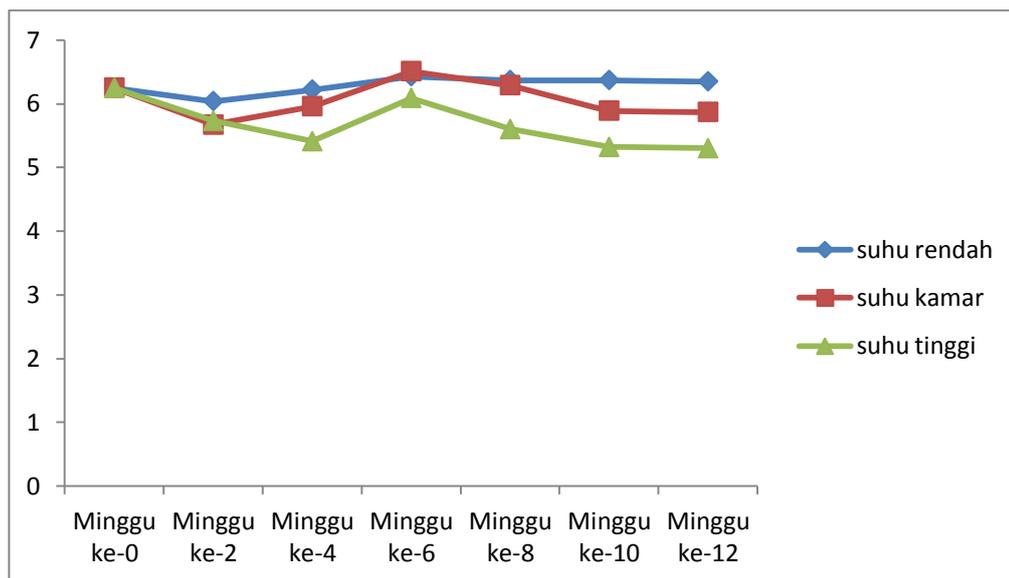
Tingkat keasaman sediaan krim liposom diukur menggunakan pH-meter. Sediaan topikal sebaiknya berada dalam rentang pH kulit yaitu 4,5-6,5. Sediaan dengan sifat yang terlalu asam akan menimbulkan iritasi kulit, sedangkan sediaan dengan sifat yang terlalu basa dapat menyebabkan kulit bersisik, akibat adanya kerusakan mantel asam pada lapisan stratum korneum kulit.

Pengukuran pH sediaan krim liposom dilakukan setiap dua minggu selama 12 minggu pada tiga suhu penyimpanan yang berbeda yaitu suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$),

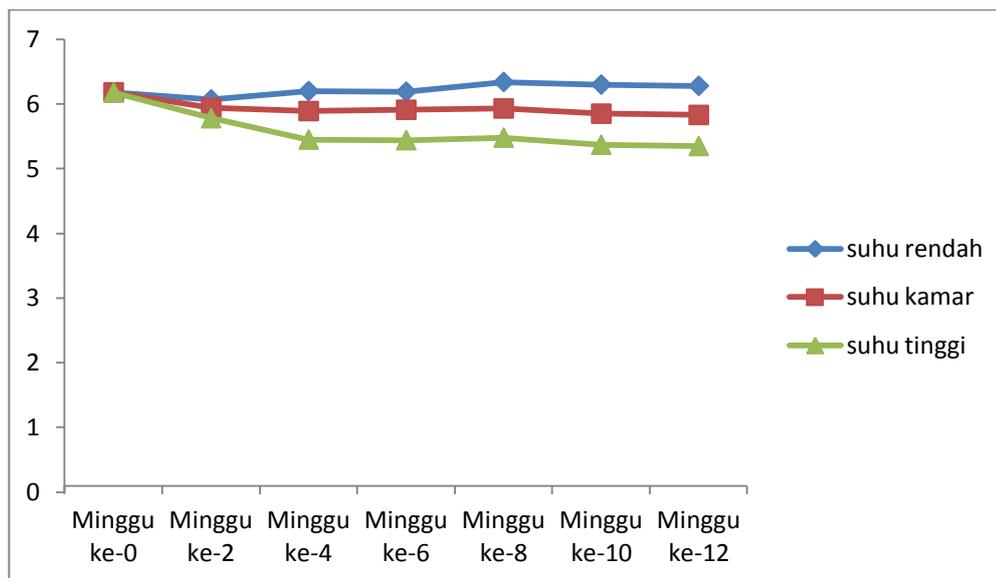
suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$). Hasil pengukuran pH krim liposom dapat dilihat pada Lampiran 36-39.



Gambar 4.9. Pengamatan pH pada krim liposom 5%



Gambar 4.10. Pengamatan pH pada krim liposom 10%

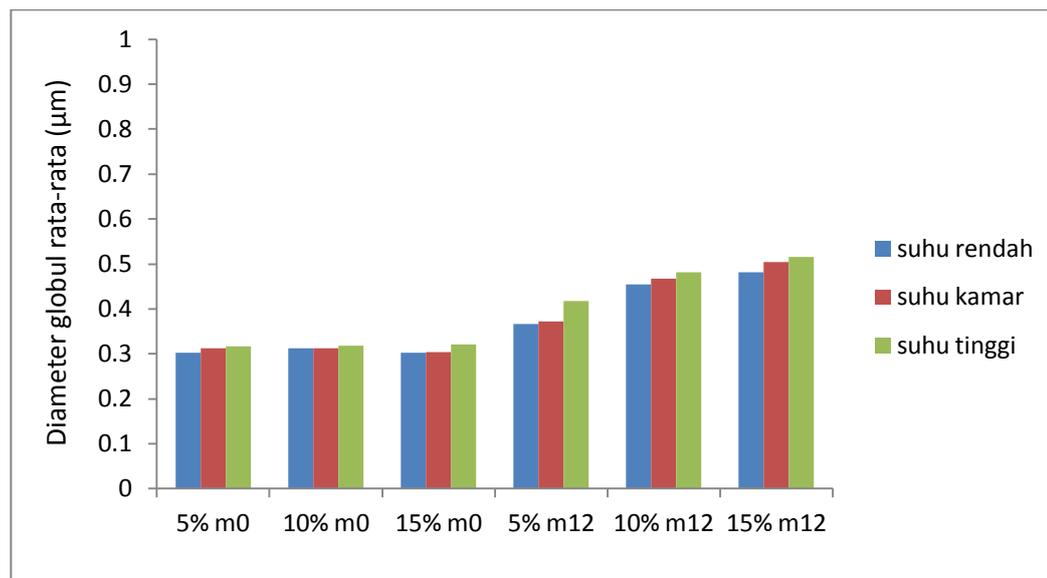


Gambar 4.11. Pengamatan pH pada krim liposom 15%

4.8.1.5 Pengukuran Diameter Globul Rata-rata

Pada pengukuran diameter globul, diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa ukuran diameter globul rata-rata berubah secara tidak beraturan, terutama pada krim yang disimpan pada suhu 40°C. Pada penyimpanan, globul-globul terus bergerak dalam sediaan sehingga bertemunya suatu globul dengan globul lainnya dalam sediaan terus terjadi, yang mengakibatkan jarak antarglobul menjadi berdekatan. Partikel-partikel yang berdekatan tersebut dapat menyatu dan menjadi partikel dengan ukuran yang lebih besar (koalesens) (Joshita, 2003). Pergerakan partikel ini semakin cepat pada suhu tinggi sehingga selama penyimpanan pada suhu tinggi ukuran globul akan lebih besar dibandingkan dengan sediaan yang disimpan di suhu kamar. Kisaran rata-rata ukuran diameter globul dari tiga formula krim dalam penyimpanan suhu yang berbeda adalah 0,396 μm .

Ukuran diameter globul pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan ukuran diameter globul sesuai dengan kisaran 0,5-50 μm untuk emulsi krim (Riskiana, 2004). Bentuk serta ukuran globul dipengaruhi oleh berbagai faktor yang terjadi selama proses pembuatan krim seperti pencampuran, pengadukan, atau jumlah emulgator yang digunakan saat pembuatan sediaan krim. Dapat dilihat pada Gambar 4.12; tabel data pada Lampiran 48-56.



Gambar 4.12. Perubahan diameter globul rata-rata sediaan krim 5%, 10% dan 15% pada minggu ke-0 dan minggu ke-12

4.8.2 Cycling Test

Uji ini dilakukan dengan menyimpan sediaan pada suhu rendah ($4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam dan dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu tinggi ($40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam sebanyak 6 siklus. Tujuan dari *cycling test* untuk mengetahui adanya kristalisasi serta pemisahan fase minyak dan fase air yang terjadi pada sediaan (Zath dan Kushla, 1996). Dari pemeriksaan, diperoleh hasil bahwa ketiga formula sediaan stabil dan tidak mengalami perubahan warna, ataupun pemisahan fase air dan fase minyak. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan krim liposom stabil secara fisik. Untuk mengetahui perubahan sebelum dan sesudah *cycling test*, dapat dilihat pada Lampiran 24.

4.8.3 Uji Mekanik/Sentrifugasi

Uji mekanik dilakukan pada sediaan krim untuk mengetahui adanya pemisahan fase setelah dilakukan pengocokan. Saat pengujian, sediaan krim akan mendapatkan gaya gravitasi. Menurut hukum Stokes, gaya gravitasi dapat mempengaruhi stabilitas sediaan krim. Gaya sentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam sebanding dengan gaya gravitasi yang diterima sediaan selama

satu tahun. Setelah dilakukan sentrifugasi ketiga formula sediaan krim liposom tidak menunjukkan adanya dua fase yang terpisah (*creaming*), melainkan tetap sebagai emulsi krim tunggal. Dari hasil sentrifugasi, sediaan krim liposom tetap homogen dan tidak memperlihatkan adanya pemisahan fase. Hasil uji mekanik dapat dilihat pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13. Penampilan sediaan krim setelah sentrifugasi 3750 rpm selama 5 jam (a) blanko; (b) KL 5%; (c) KL 10%; (d) KL 15%

4.9 Uji Penetrasi secara *In Vitro*

4.9.1 Uji Perolehan Kembali (UPK) α -Mangostin dalam Sediaan Krim

Penentuan kadar α -mangostin dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu dengan kromatografi gas, kromatografi cair kinerja tinggi/KCKT, dan KLT densitometri (Pothitirat et al., 2008; Pothitirat & Gritsanapan 2008). Namun metode kromatografi gas dan KCKT merupakan metode yang memerlukan peralatan yang mahal, waktu yang lama serta prosedur yang sulit untuk mempersiapkan larutan sampel dan larutan standar (Pothitirat et al., 2008; Pothitirat & Gritsanapan, 2008). Pada penelitian ini dipilih metode KLT

densitometri dengan menggunakan *TLC Scanner CAMAG III*. Metode KLT densitometri dipilih karena merupakan metode yang mudah dilakukan, tidak terlalu mahal, memberikan hasil yang dapat dipercaya, dan kuantitasi α -mangostin menjadi akurat (Touchstone dan Dobbins, 1983). Bila dibandingkan dengan spektrofotometri, hasil KLT bisa lebih dipercaya sebab pada KLT analisis kuantitatif hanya dilakukan pada bercak α -mangostin yang telah dipisahkan melalui proses elusi sehingga α -mangostin dapat terpisah dari senyawa lain yang terdapat di dalam sediaan krim liposom.

Penentuan kandungan α -mangostin perlu dilakukan ekstraksi α -mangostin dari sediaan krim liposom yaitu dengan melarutkan sediaan krim liposom di dalam metanol. Metanol dipilih sebagai pelarut sebab ekstrak kulit buah manggis α -mangostin mudah larut di dalam metanol. Setelah dilarutkan larutan disentrifugasi menggunakan sentrifugator dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 jam untuk mendapatkan supernatan yang jernih. Supernatan tersebut ditotolkan pada lempeng KLT yang terbuat dari gel silika. Proses persiapan dan penotolan pada lempeng KLT sama seperti ketika melakukan penetapan kadar α -mangostin dalam fraksi diklorometana ekstrak metanol dari kulit buah manggis, namun terdapat perbedaan dimana untuk membuat kurva kalibrasi standar α -mangostin dilarutkan di dalam metanol.

Diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi linier $y = 37801x + 649.32$, dengan koefisien korelasi (r) adalah $= 0.9907$. Koefisien korelasi tersebut sudah dapat dianggap linier sebab nilai r mendekati 1. Kurva kalibrasi yang digunakan untuk UPK α -mangostin dapat dilihat pada Lampiran 6. Dari hasil deteksi menggunakan *TLC Scanner CAMAG III*, diperoleh data penetapan kadar α -mangostin dari masing-masing sediaan yang dapat dilihat pada Lampiran 45. Hasil menunjukkan bahwa kandungan α -mangostin untuk sediaan krim liposom 5%, 10%, 15% serta krim xanton yang setara dengan krim liposom 15% berturut-turut adalah 99,62 %; 98,09 %; 100,498 %, 103,163 %. Hal tersebut di dalam rentang akurasi yang diperbolehkan untuk sediaan farmasi dari bahan hayati, yaitu 88-112 % (Harmita, 2006).

4.9.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi α -Mangostin untuk analisis Kuantitatif Hasil Uji Penetrasi

Larutan standar yang digunakan pada pembuatan kurva kalibrasi pada tahap ini yaitu larutan dengan konsentrasi 100, 80, 60, 40, 20, 10, dan 5 $\mu\text{g/mL}$. Proses pembuatan kurva kalibrasi pada lempeng KLT dilakukan sesuai prosedur pembuatan kurva kalibrasi untuk penetapan kadar α -mangostin di dalam fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit buah manggis. Pada penelitian ini, proses analisis sampel dari sediaan krim liposom 5%, 10%, dan 15% dilakukan pada hari yang berbeda. Oleh karena itu dibuat 3 kurva kalibrasi untuk masing-masing sediaan. Data luas puncak dan kurva kalibrasi dapat dilihat pada Lampiran 61-63.

Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh untuk masing-masing sediaan adalah sebagai berikut:

- ~ Sediaan krim liposom 5%: Persamaan regresi linear: $y = 33265x - 66,889$; nilai koefisien korelasi (r) ialah 0,9990 (Lampiran 7).
- ~ Sediaan krim liposom 10%: Persamaan regresi linear: $y = 47821x - 1414,5$; nilai koefisien korelasi (r) ialah 0,9890 (Lampiran 8)
- ~ Sediaan krim liposom 15% dan sediaan fraksi diklorometana KBM: Persamaan regresi linear: $y = 30101x - 677,63$; nilai koefisien korelasi (r) ialah 0,9951 (Lampiran 9).

4.9.3 Analisis Data Penetrasi α -Mangostin

Pada penelitian ini dilakukan uji penetrasi α -mangostin secara *in vitro* menggunakan sel difusi Franz. Uji ini dilakukan untuk mengetahui jumlah α -mangostin yang terpenetrasi melalui kulit selama interval waktu tertentu dari sediaan krim liposom yang telah dibuat. Uji penetrasi secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan membran sebagai model kulit. Membran ini dapat berupa membran biologis dari hewan atau membran artifisial seperti selofan (Yi-Hung Tsai, Jia-You Fang, Pao-Chu Wu, dan Yaw-Bin Huang, 1995).

Membran yang digunakan pada penelitian ini adalah membran dari kulit abdomen tikus putih betina galur *Sprague Dawley* yang berumur 2-3 bulan

dengan berat 150-200 gram dengan ketebalan membran $0,6 \pm 0,1$ mm dan luas membran $1,52 \text{ cm}^2$. Kulit tikus yang telah dicukur bulunya dipilih sebagai membran pada uji ini sebab telah dilaporkan bahwa permeabilitasnya mirip dengan permeabilitas kulit manusia. Kulit manusia memiliki koefisien permeabilitas sebesar $92,27 \text{ cm/jam} \times 10^5$, sedangkan kulit tikus yang sudah dicukur bulunya memiliki koefisien permeabilitas sebesar $103,08 \text{ cm/jam} \times 10^5$ (Wester dan Maibach, 1990).

Sebelum digunakan, kulit tikus terlebih dahulu dicukur bulunya secara hati-hati agar kulit tidak terluka. Pencukuran bulu harus dilakukan secermat mungkin agar tidak terjadi luka pada kulit sebab kulit yang terluka dapat berpengaruh terhadap laju absorpsi suatu obat. Lemak subkutan juga harus dibersihkan agar tidak mengganggu penetrasi krim liposom ke dalam kulit. Setelah dibersihkan kulit dimasukkan ke dalam medium yang akan digunakan. Hal ini bertujuan untuk menghidrasi kulit sebelum dimasukkan ke dalam lemari pendingin. Kulit yang disimpan dapat digunakan selama rentang waktu 24 jam.

Hal lain yang harus diperhatikan pada uji penetrasi secara *in vitro* adalah zat aktif (yaitu krim liposom), dimana harus larut dalam cairan kompartemen reseptor yang digunakan. Selain itu, jenis formulasi krim yang digunakan merupakan emulsi minyak dalam air, sehingga basis krim yang digunakan dalam penelitian ini akan larut dalam cairan kompartemen reseptor. Cairan kompartemen reseptor yang digunakan untuk uji penetrasi α -mangostin pada penelitian ini adalah dapar fosfat pH 7,4. Dapar fosfat dipilih karena dapat digunakan sebagai simulasi cairan biologis tubuh (Chen *et al.*, 2012). Selama uji penetrasi, suhu tetap dijaga menggunakan termostat pada suhu 37°C sesuai dengan suhu tubuh manusia.

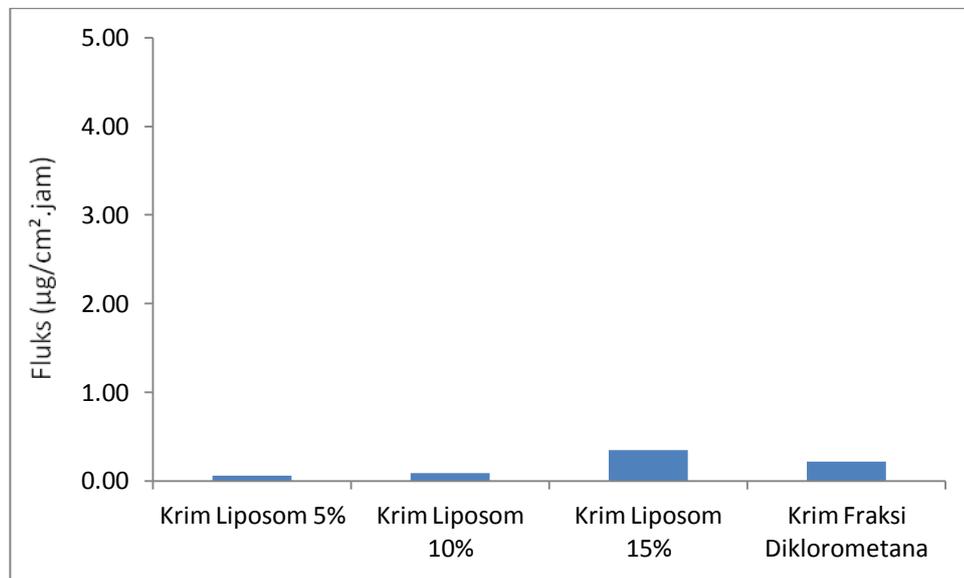
Setelah dilakukan uji penetrasi selama 8 jam dengan pengambilan sampel pada 11 titik interval waktu, diperoleh hasil bahwa penetrasi α -mangostin melalui membran kulit tikus dari sediaan krim liposom 5%, 10% dan 15% berturut-turut adalah $11,19 \pm 3,15$; $19,24 \pm 0,75$; $18,22 \pm 1,35 \mu\text{g/cm}^2$. Jumlah α -mangostin terpenetrasi paling banyak adalah dari sediaan krim liposom 10%. Dari jumlah kumulatif α -mangostin yang terpenetrasi dapat dihitung persentase α -mangostin

terpenetrasi dari masing-masing sediaan krim liposom. Persentase α -mangostin terpenetrasi dari sediaan krim liposom 5%, 10% dan 15% berturut-turut adalah $0,0373 \pm 0,0053$ %; $0,0378 \pm 0,00158$ %; dan $0,0227 \pm 0,00178$ %.

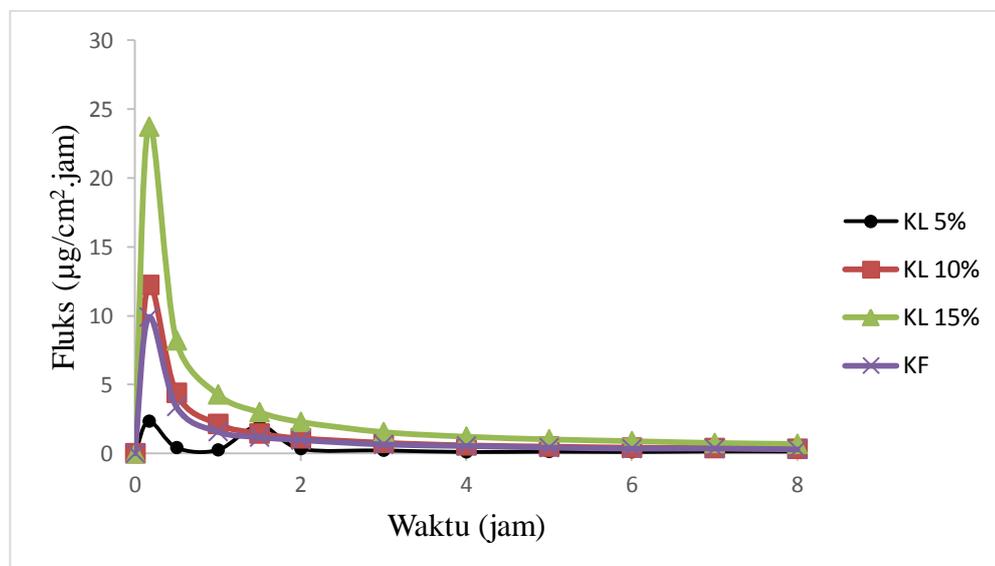
Dari Gambar 4.15 dapat terlihat bahwa proses absorpsi α -mangostin melalui kulit terjadi dengan sangat cepat. Pada menit ke-0 menuju menit ke-10 terjadi kenaikan jumlah α -mangostin yang terpenetrasi. Tahap ini merupakan kondisi awal akibat kondisi yang belum mencapai *steady state*. Hal itu disebabkan α -mangostin merupakan senyawa yang mudah larut dalam lemak sehingga absorpsi dari α -mangostin cukup baik dan konsentrasi maksimal dapat segera tercapai. Telah dilaporkan pula bahwa α -mangostin dapat terpenetrasi 1 menit setelah sediaan diaplikasikan di kulit (Kam dan Hayman, 2008).

Absorpsi yang begitu cepat diduga pula akibat adanya bahan-bahan tambahan di dalam sediaan, seperti asam stearat, propilen glikol, isopropil miristat. Propilen glikol bersifat sebagai humektan serta merupakan bahan peningkat penetrasi kulit (Barry, 2001). Jumlah kumulatif α -mangostin terpenetrasi diplotkan terhadap waktu kemudian dibuat persamaan regresi linier sehingga dapat ditentukan fluks α -mangostin dari masing-masing sediaan (Gambar 4.14). Fluks yang diperoleh dari kemiringan garis (Lampiran 10-12) menunjukkan bahwa nilai fluks diambil pada keadaan *steady state* mengikuti kaidah hukum Fick (Martin dan Cammarata, 1983). Berdasarkan Gambar 4.15 dapat dibandingkan fluks dari masing-masing sediaan krim. Fluks dari sediaan krim liposom 5%, 10%, 15%, dan krim fraksi diklorometana secara berturut-turut adalah $0,058 \pm 0,07$ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$; $0,08 \pm 0,04$ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$; $0,35 \pm 0,25$ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$ dan $0,22 \pm 0,05$ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$ (Lampiran 60). Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa nilai fluks pada sediaan krim liposom tidak berbeda jauh dengan fluks dari sediaan krim fraksi diklorometana (tanpa dibuat liposom), karena nilai fluks dari keempat sediaan krim tidak mencapai 1 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak adanya perbedaan antara kecepatan penetrasi antara krim liposom maupun krim tanpa liposom. Hal tersebut dapat dikarenakan liposom yang dibuat dalam penelitian ini masih perlu dilakukan pengecilan ukuran partikel. Menurut Verma *et al.* (2003), ukuran partikel liposom berperan

penting dalam penetrasi ke dalam kulit. Liposom dengan berukuran lebih kecil dapat penetrasi lebih mudah ke dalam lapisan kulit dibandingkan liposom yang lebih besar.

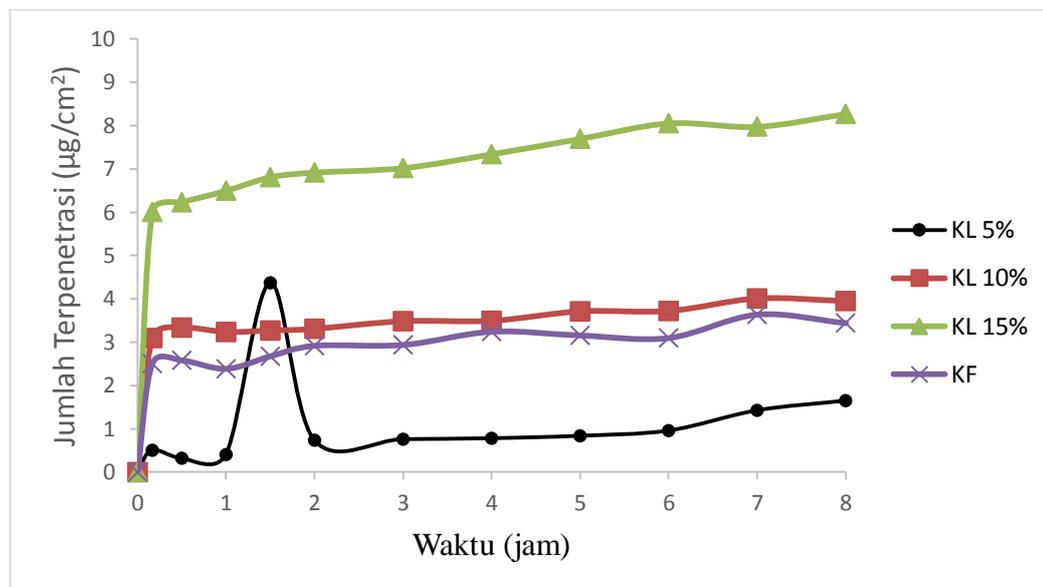


Gambar 4.14. Fluks α -mangostin dari sediaan krim liposom 5%, 10%, 15% dan krim fraksi diklorometana (rata-rata \pm SD, n = 3)



Keterangan: KL 5 % = Krim Liposom konsentrasi 5%, KF = Krim Fraksi (tanpa liposom)

Gambar 4.15. Fluks α -mangostin tiap waktu pengambilan



Keterangan: KL 5 % = Krim Liposom konsentrasi 5%, KF = Krim Fraksi (tanpa liposom)

Gambar 4.16. Jumlah kumulatif α -mangostin terpenetrasi

Dari Gambar 4.16 dapat terlihat bahwa jumlah kumulatif α -mangostin terpenetrasi dari sediaan krim liposom 5% yang awalnya menaik lalu menurun dan kemudian mendatar. Hal ini disebabkan pada menit-menit awal terdapat perbedaan konsentrasi α -mangostin yang cukup besar antara kompartemen reseptor dan donor. Keadaan tersebut merupakan keadaan *nonsteady-state* (Martin, Swarbricks, dan Cammarata, 1983).

Untuk menentukan suatu sediaan memiliki kecepatan penetrasi yang baik, dapat dilihat dari tingkat fluks serta *lag time*. *Lag time* adalah waktu diperlukan oleh suatu senyawa obat bergerak melalui membran dan berdifusi ke dalam cairan reseptor, sampai akhirnya mencapai kondisi difusi yang disebut dengan *steady state*. *Steady state* dicapai apabila kecepatan penetrasi senyawa obat yang konstan melalui membran (William, 2003). Berdasarkan hasil daya penetrasi, tidak terlihat adanya *steady state*, sehingga tidak dapat ditentukan *lag time*. Oleh karena itu, sebaiknya waktu pengambilan pada menit pertama dirinci dari menit pertama dengan jeda waktu per menit.

Hasil penetrasi pada krim liposom 5% menunjukkan adanya ketidakstabilan jumlah kumulatif α -mangostin yang terpenetrasi. Hal tersebut

mungkin diakibatkan kesalahan pengerjaan saat melakukan uji penetrasi. Kesalahan dapat terjadi pada proses pengambilan, penanganan dan penyimpanan kulit uji, pengambilan sampel dari kompartemen reseptor pada waktu yang akurat, jumlah sampel yang diambil dan pengembalian cairan dalam kompartemen reseptor serta konsentrasi/dosis senyawa obat untuk mendapatkan hasil uji penetrasi yang lebih optimal.

Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi absorpsi obat melalui kulit adalah viskositas sediaan, disolusi suatu obat dalam pembawa, difusi obat terlarut dari pembawa ke permukaan kulit, dan penetrasi obat melalui lapisan kulit terutama stratum korneum (Martin, Swarbrick, dan Cammarata, 1983; Barry, 2001). Dapat dikaitkan hubungan antara viskositas dan laju penetrasi, yaitu laju penetrasi berbanding terbalik dengan nilai viskositas. Semakin kental suatu sediaan maka akan semakin sulit pelepasan obat dari pembawanya, sehingga penetrasi α -mangostin dalam melewati stratum korneum lebih mudah (Dragicevic-Curic, *et al.*, 2009).

Koefisien partisi obat juga dapat mempengaruhi laju penetrasi suatu obat. Alfa-mangostin merupakan obat yang tidak larut di dalam air. Fase minyak dari emulsi krim minyak dalam air merupakan pembawa yang baik untuk bahan obat yang tidak larut dalam air. Dalam sediaan topikal asam stearat dapat meningkatkan permeabilitas kulit dengan cara mengganggu susunan lapisan lipid bilayer stratum korneum sehingga dapat meningkatkan penetrasi α -mangostin (Williams dan Barry, 2007). Faktor lainnya adalah difusi obat dari pembawa menuju permukaan kulit. Proses difusi suatu obat dipengaruhi pula oleh kelarutan obat di dalam pembawanya. Ketika suatu obat memiliki kelarutan yang rendah di dalam pembawanya, maka proses difusi obat dari pembawa akan semakin lambat dan akhirnya akan semakin lama pula untuk mencapai permukaan kulit.

4.11 Penetapan Antioksidan pada Fraksi, Krim Liposom, Krim tanpa liposom, Krim setelah terpenetrasi dan Krim tanpa liposom setelah terpenetrasi dengan metode DPPH secara Spektrofotometri UV-Vis *Micro Plate Reader*

Fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit buah manggis dilarutkan dalam 1 mg/mL DMSO. Dalam total volume 1 mL terdiri dari 500 μ l fraksi diklorometana dan 500 μ l DPPH (125 mikrometer dalam etanol). Larutan uji dikocok dan dibiarkan pada suhu ruangan dalam keadaan gelap selama 30 menit. Absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Hasil uji aktivitas antioksidan serbuk fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit buah manggis (*G. mangostana* L.) dengan metode peredaman DPPH, diperoleh nilai IC_{50} sebesar 37,53 μ g/ml yang dibandingkan dengan blanko positif yaitu vitamin C (IC_{50} sebesar 5,045 μ g/ml). Hal tersebut berarti konsentrasi fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit buah manggis yang diperlukan untuk menangkap 50% radikal bebas ialah 37,53 μ g/ml.

Hal tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya pernah dilakukan oleh Kosem *et al.* (2007). Hasil pengujian dengan metode peredaman DPPH pada ekstrak metanol kulit buah manggis memiliki nilai IC_{50} 20,5 μ g/ml dengan vitamin C sebagai blanko positif memiliki nilai IC_{50} 16 μ g/ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa xanton fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit buah manggis memiliki nilai IC_{50} yang sebanding dengan nilai ekstrak metanol kulit buah manggis.

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH secara Spektrofotometri UV-Vis *Microplate Reader* berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Blois tahun 1958. Metode tersebut karena merupakan metoda yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Pemudaran warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak dari spektrofotometer, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Semakin pudar warna dan semakin rendah nilai absorbansi menunjukkan bahwa semakin banyak radikal bebas yang bereaksi dengan

antioksidan yang terdapat dalam serum. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai % aktivitas antioksidan.

Tabel 4.1 Hasil Uji Antioksidan

Sampel	Bentuk	Parameter	Hasil (ppm)
Fraksi Diklorometana	Serbuk	IC50	37,53
Krim Liposom 5%	Krim	IC50	> 40.000
Krim Liposom 10%	Krim	IC50	> 40.000
Krim Liposom 15%	Krim	IC50	> 40.000
Krim Fraksi ~ Krim Liposom 15%	Krim	IC50	6502,48
Hasil SDF Krim Liposom 5%	Cairan	AEAC	246,322
Hasil SDF Krim Liposom 10%	Cairan	AEAC	187,861
Hasil SDF Krim Liposom 15%	Cairan	AEAC	226,322
Hasil SDF Krim Fraksi ~ Krim Liposom 15%	Cairan	AEAC	216,322

Fraksi kulit buah manggis diketahui memiliki IC_{50} sebesar 37,53 ppm. Namun setelah dibuat sediaan krim liposom, nilai antioksidan yang diperoleh sangat kecil, yaitu lebih besar dari 40.000 ppm. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kapasitas antioksidan. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Hal tersebut dapat disebabkan jumlah fraksi yang ditambahkan ke dalam sediaan cukup kecil. Dalam pembuatan 20 ml liposom, fraksi yang ditambahkan hanya 100 mg, kemudian yang terperap di dalam liposom hanya sekitar 77 %, sehingga dapat diketahui 20 ml liposom hanya mengandung 76,42 mg α -Mangostin. Hal tersebut menunjukkan bahwa sediaan krim liposom 5%, 10% dan 15% memiliki aktivitas antioksidan yang kurang baik. Hal tersebut mungkin disebabkan penanganan sediaan krim liposom yang kurang tepat selama penyimpanan sediaan krim liposom sebelum dilakukan uji antioksidan dengan metode peredaman DPPH dengan *mikroplate reader*. Telah diketahui bahwa senyawa aktif dari liposom akan mengalami kerusakan bila disimpan di suhu di atas suhu 4°C. Hanya krim fraksi diklorometana memiliki nilai IC_{50} yang cukup baik yaitu 6502,481 ppm.

Sampel yang telah terpenetrasi pada teknik sel difusi franz juga ditetapkan aktivitas antioksidannya. Dalam penetapan antioksidan konsentrasi sampel

sediaan krim yang telah terpenetrasi terlalu kecil bila dinyatakan dengan IC_{50} , maka penetapan antioksidan dinyatakan dengan AEAC. Nilai AEAC adalah konsentrasi suatu senyawa uji yang dibandingkan dengan asam askorbat (vitamin C) standar, yaitu dengan memplot serapan senyawa yang diperoleh setelah penambahan DPPH dengan kurva kalibrasi Vitamin C standar. Dari penelitian diketahui IC_{50} Vitamin C ialah 5,045 ppm.

Sampel hasil daya penetrasi dari krim liposom 5% memiliki kapasitas antioksidan yang ekuivalen dengan vitamin C (AEAC) 5,045 ppm ialah 246,322 ppm, AEAC krim liposom 10% ialah 187,861 ppm, sedangkan nilai AEAC krim liposom 15 % yaitu 226,322 ppm, nilai AEAC krim fraksi diklorometana (tanpa dibuat liposom) adalah 216,322 ppm. Nilai AEAC berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya. Bila nilai AEAC semakin rendah, maka aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh suatu bahan uji juga semakin rendah. Hal tersebut menunjukkan walaupun konsentrasi krim liposom 10% lebih sedikit kandungan zat aktif daripada krim liposom 15%, krim liposom 10% memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan sediaan krim lainnya (Lampiran 79). Hal tersebut mungkin dikarenakan konsentrasi 10% merupakan konsentrasi yang optimal bagi sediaan krim liposom untuk berpenetrasi melalui kulit.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- a. Ukuran partikel liposom yang mengandung ekstrak kulit buah manggis yang diperoleh dari pengukuran PSA berkisar dari 5,6-7,4 μm . Jumlah kumulatif α -Mangostin yang terpenetrasi dari krim liposom 5%, 10%, 15% dan krim fraksi berturut-turut adalah $1,65 \pm 2,22$; $3,95 \pm 0,13$; $8,27 \pm 0,14$; dan $3,44 \pm 0,27$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Fluks dari krim liposom 5%, 10%, 15% dan krim fraksi berturut-turut adalah $0,058 \pm 0,07$; $0,088 \pm 0,04$; $0,349 \pm 0,25$; $0,22 \pm 0,046$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$.
- b. Daya penetrasi dari sediaan krim liposom dan krim fraksi diklorometana (tanpa dibuat liposom) tidak memiliki perbedaan yang signifikan berdasarkan nilai fluks maupun jumlah kumulatif α -mangostin yang terpenetrasi dalam kulit.
- c. Krim liposom 5%, 10%, dan 15% yang disimpan pada suhu rendah ($4 \pm 2^\circ\text{C}$), kamar ($29 \pm 2^\circ\text{C}$), dan tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 12 minggu dapat dinyatakan stabil secara fisik dengan parameter organoleptis, homogenitas, viskositas, konsistensi, dan diameter globul.

5.2 Saran

- a. Dalam pembuatan liposom, perlu dilakukan teknik pengecilan ukuran liposom, menggunakan *probe-sonication*.
- b. Dalam uji penetrasi dengan metode Sel Difusi Franz perlu dilakukan standarisasi prosedur yang tepat dan akurat baik waktu, dosis, konsentrasi untuk mendapatkan hasil uji penetrasi yang lebih optimal.
- c. Perlu dilakukan uji penetrasi krim liposom yang mengandung alfa mangostin dari ekstrak kulit buah manggis menggunakan membran dari kulit manusia.
- d. Perlu digunakan alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pada analisis kuantitatif untuk mengetahui jumlah α -mangostin dari xanton hasil fraksi diklorometana kulit buah manggis sehingga memperoleh pemisahan yang lebih baik dan lebih sensitif.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. (2009). Seri farmasi industry: Teknologi bahan alam. Penerbit ITB, Bandung: 318 hlm.
- Ardiani, R. (2012). Karakterisasi simplisia, skrining fitokimia dan uji antimutagenik ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada mencit jantan menggunakan metode mikronukleus. Skripsi Sarjana Ekstensi Farmasi Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Bernstein, E.F., Chen, Y.Q., Kopp, J.B., Fisher, L., Brown, D.B., Hahn, P.J. (1996). Long-term sun exposure alters the collagen of the papillary dermis. Comparison of sun-protected and photoaged skin by northern analysis, immunohistochemical staining, and confocal laser scanning microscopy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 34(2 Pt 1), 209-218.
- Bronaugh, R.L., Stewart, R.F. and Congdon, E.R. (1982). Methods for in vitro percutaneous absorption studies. II. Animal models for human skin. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 62: 481-488.
- Chairungsrilerd, N., K. Takeuchi, Y. Ohizumi, S. Nozoe, dan T. Ohta. (1996). Mangostanol, a prenyl xanthone from *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry* 43(5): 1099-1102.
- Chung, J.H., Kang, S., Varani, J., Lin, J., Fisher, G.J., & Voorhees, J.J. (2000). Decreased extracellular-signal-regulated kinase and increased stress-activated MAP kinase activities in aged human skin in vivo. *Journal of Investigative Dermatology*, 115(2), 177-182.
- Crommelin, D.J.A., G.W. Bos dan G. Storm. (2003). Liposome: Successful carrier systems for targeted delivery of drugs. Business Brifing: Pharmatech.
- De Polo, K. F. (1998). *A Short Textbook of Cosmetology*. Ausburg, Germany : Verlag Fur Chemische Industrie. H. Ziokowsky Gmb H, 19-20, 97.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ditjen POM. (1985). *Formularium Kosmetika Indonesia*. Edisi ke I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djajadisastra, J. (2002). *Buku Petunjuk Praktikum Farmasi Fisika*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Djajadisastra, J. (2003). *Cosmetic stability*. Departemen Farmasi. FMIPA UI. Depok: Seminar setengah hari HIKI.
- FDA AS. (2003). Guidance for Industry Q1A(R2) Stability Testing of new drug substances and products. US Department of Health and Human Services. FDA CDER CBER. November. ICH Revision 2.
- Fisher, G.J., Z.Q. Wang, S.C. Datta, J. Varani, S. Kang, dan J.J. Voorhees. (1997). Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *New England Journal of Medicine*, 337(20), 1419-1428.
- Fisher, G.J., S. Kang, J. Varani, Z. Bata-Csorgo, Y. Wan, dan S. Datta. (2002). Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Archives of Dermatology*, 138(11), 1462-1470.
- Foreman, M.I., Cianachan, I. and Kelly, I.P. (1983). Diffusion barriers in skin- a new method of comparison. *Br.J.Dermatol.* 108: 549-553.
- Gandjar, I.G. dan A. Rohman (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Graf, J. (2005). *Anti-aging skin care ingredient technologies*. In: Burgess, C.M. (Ed.) *Cosmetic dermatology*. Washington: Springer.
- Gregoriadis, Gregory. (1986). *Liposome Technology Volume I Preparation of Liposomes*. Florida: CRC Press, Inc.
- Gilchrest, B.A. (1990). Skin aging and photoaging. *Dermatology Nursing*, 2(2), 79-82.
- Gilchrest, B.A. (1996). A review of skin ageing and its medical therapy. *British Journal of Dermatology*, 135(6), 867-875.

- Hendayana, S. (2006) *Kimia pemisahan: Metode kromatografi dan elektroforesis Modern*. Edisi pertama. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hensley, K., & Floyd, R.A. (2002). Reactive oxygen species and protein oxidation in aging: A look back, a look ahead. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 397(2), 377-383.
- Helfrich, Y.R., D.L. Sachs, dan J.J. Voorhees. (2008). Overview of skin aging and photoaging. *Dermatology Nursing*, 20(3), 177-183.
- Hupfeld, S., Holsæter, A. M., Skar, M., Frantzen, C. B., Brandl, M. (2006). Liposome size analysis by dynamic/static light scattering upon size exclusion-field flow--fractionation. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 6: 3025-3031.
- Hutapea, Johnny Ria, et al. (1994). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid III*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI dan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Hyun-Ah Jung, B.-N. Su, W. J. Keller, R.G. Mehta, dan A.D. Kinghorn. (2006). Antioxidant xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (mangosteen). *J. Agric. Food Chem.* 54: 2077-2082
- Ichihashi, M. (2009). Photoaging of the skin. *Anti-Aging Medicine* 6(6): 46-59.
- Jusuf, N.K. (2005). Kulit menua. *Kedokteran Nusantara* 38 (2): 184-188.
- Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu. (2001). In Vitro and In Vivo Evaluations of Topically Applied Capsaicin and Nonivamide from Hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics* (224), 89-104.
- Jia-You Fang, Yann-Lii Leu, Ying-Yue Wang, dan Yi-Hung Tsai. (2002). In Vitro Topical Application and In Vivo Pharmacodynamics Evaluation of Nonivamide Hydrogels Using Wistar Rat as an Animal Model. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 15, 417-423
- Kang, S., G.J. Fisher, dan J.J. Voorhees. (2001). Photoaging: Pathogenesis, prevention, and treatment. *Clinics in Geriatric Medicine*, 17(4), 643-659.

- Kang, S., G.J. Fisher, dan J.J. Voorhees. (1997). Photoaging and topical tretinoin: Therapy, pathogenesis, and prevention. *Archives of Dermatology*, 133(10), 1280-1284.
- Kaomongkolgit, R., K. Jamdee dan N. Chaisomboon. (2009). Antifungal activity of alpha-mangostin against *Candida albicans*. *Journal of Oral Science* 51(3): 401-406.
- Kibbe, A.H. (2000). *Handbook of pharmaceutical excipients*. 3rd ed. London: American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press.
- Kirby, C. dan G. Gregoriadis. (1984). Dehydration-Rehydration Vesicles: A Simple Entrapment in Liposome. *Biotechnology*, 979-984.
- Krowczynski, L. (1987). *Extended-Release Dosage Forms*. USA: CRC Press.
- Kullar, Rachit, Deepinder Kumar, Nimrata Seth dan Seema Saini. (2012). Formulation and Evaluation of Mefenamic Acid Emulgel for Topical Delivery. *Saudi Pharmaceutical Journal* (20), 63-67.
- Kurban, R.S., dan J. Bhawan. (1990). Histologic changes in skin associated with aging. *Journal of Dermatologic Surgery & Oncology*, 16(10), 908-914.
- Lavker, R.M. (1995). *Cutaneous aging: Chronologic versus photoaging*. In B. Gilchrest (Ed.), *Photodamage*. Cambridge: Blackwell, Vol.1, 123-135.
- Lionberger, D. R dan M. J. Brennan. (2010). Topical Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs for The Treatment of Pain Due to Soft Tissue Injury: Diclofenac Epolamine Topical Patch. *Journal of Pain Research*, (3), 223-233.
- Lipowsky, R., dan E. Sackmann. (1995). *Handbook of Biological Physics Volume 1*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Lund, W. (1994). *The Pharmaceutical Codex, 12th Ed*. London: The Pharmaceutical Press.
- Mabberley, D.J. (1997). *The plant book: A portable dictionary of the vascular plants*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Mardawati, E., F. Filianty, Herlina Marta. (2008). Kajian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit manggis di kecamatan puspahiang kabupaten tasikmalaya.

Jurusan Teknologi Industri Pangan. Fakultas Teknologi Industri Pertanian
Universitas Padjadjaran

- Martin, A., Swarbrick, J., dan Cammarata, A. (1983). *Farmasi Fisik* (Joshita Djajadisastra dan Iis Aisyah Baihaki, Penerjemah). Jakarta: UI Press, 1143-1183.
- Martínez-Abundis, E., N. García, F. Correa, S. Hernández-Reséndiz, J. Pedraza-Chaverri, dan C. Zazueta. (2010). Effects of alpha-mangostin on mitochondrial energetic metabolism. *Mitochondrion* 10 (2): 151-157.
- Márquez-Valadez, B., R. Lugo-Huitrón, V. Valdivia-Cerda, L. R. Miranda-Ramírez, V. P.- D. la Cruz, O. González-Cuahutencos, I. Rivero-Cruz, R. Mata, A. Santamaría, dan J. Pedraza-Chaverri. (2009). The natural xanthone alpha-mangostin reduces oxidative damage in rat brain tissue. *Nutritional Neuroscience* 12(1): 35-42.
- Massagué, J. (1998). TGF-beta signal transduction. *Annual Review of Biochemistry*, 67, 753-791.
- Miryanti, A., L. Sapei, K. Budiono, dan S. Indra. (2011). Ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) *Engineering Science Journal*.
- Mitkari, B.V., S.A. Korde, K.R. Mahdik, dan C.R. Kokare. (2010). Formulation and Evaluation of Topical Liposomal Gel for Fluconazole. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 44, 324-333.
- Mitsui, T. (1997). *New Cosmetic Science*. Belanda: Elsevier Science B.V.
- Molyneux, Philip. (2003). The Use of Stable Free Radical Diphenilpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanarin Journal Science Technology*, 26.
- Moongkarndi, P., N. Kosema, S. Kaslungka, O. Luanratana, N. Pongpan, dan N. Neungton. (2004). Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. *Journal of Ethnopharmacology* 90: 161–166.
- Mukherjee, Pulok K., M. Venkatesh, Kuntal Maiti, Kakali Mukherjee dan B. P. Saha. (2009). Value Added Herbal Drug Delivery Systems-Perspectives and

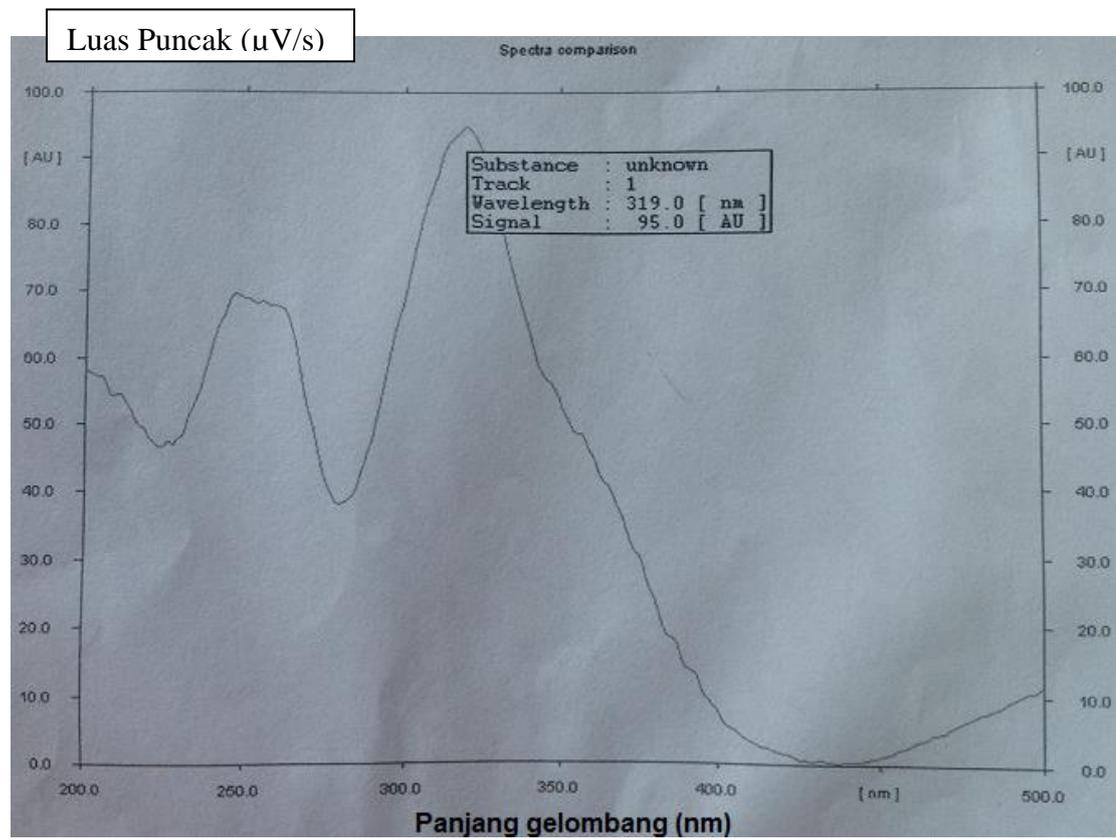
- Developments. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 43.
- Nusmawarheni, S., D. Prihantini, dan E.P. Pohan. (1990). *Mengenal buah unggul Indonesia*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Obolskiy D., Pischel I., Siriwatanametanon N. , dan Heinrich M. (2009). *Garcinia mangostana* L.: A phytochemical and pharmacological review. *Phytother Res*. Aug 23(8): 1047-1065.
- Panwar, et. al. (2011). Emulgel: A Review. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, 1(3), 333-343.
- Percival, M. (1998). Clinical nutrition insight antioxidant. *Clin. Nut. J*. 31, 1.
- Quan, T., T. He, S. Kang, J.J. Voorhees dan G.J. Fisher. (2002). Ultraviolet irradiation alters transforming growth factor beta/smad pathway in human skin in vivo. *Journal of Investigative Dermatology*, 119(2), 499-506.
- Quisumbing, Eduardo. (1978). *Medicinal Plants of the Philippines*. Katha Publishing Company. Quezon: JMC PRESS.
- Ramadhani, Hanifah. (2011). *Pengaruh Penambahan Asam Oleat Terhadap Sensitivitas Liposom Pada Berbagai Kondisi pH dan Penjerapan Spiramisin oleh Liposom*. Skripsi Sarjana Farmasi. Depok: FMIPA UI.
- Reynolds, J. E. F. (1982). *Martindale the extrapharmacopoeia*. 28th Ed. London: Pharmaceutical Press, 687.
- Riskiana A. (2004). Perbandingan efektifitas kerja antioksidan dari krim antiaging yang mengandung berbagai zat antioksidan. Skripsi Program Sarjana Jurusan Farmasi. FMIPA Universitas Indonesia. Depok: Departemen Farmasi.
- Rowe, Raymond C., Paul J. Sheskey, dan Marian E Quinn. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. USA: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 178;358.
- Salazar-Aranda, R., L.A. Perez-Lopez, J. Lopez-Arroyo, B.A. Alanis-Garza dan N.W. de Torres. (2011). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Plants from Northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative*

- Medicine 5.Samad, A., Y. Sultana, dan M. Aqil. (2007). Liposomal drug delivery system: An update review. *Current drug delivery* 4: 297-305.
- Saputra, Lucky Andrian. (2011). *Pengaruh Frekuensi Siklus Ekstruksi dan Penambahan Asam Oleat dalam Pembentukan Nanopartikel Liposom untuk Penjerapan Spiramisin*. Skripsi Sarjana Farmasi. Depok: FMIPA UI.
- Satong-aun, W.; R. Assawarachan. dan A. Noomhorm. (2011). The influence of drying temperature and extraction methods on a-mangostin in mangosteen pericarp. *Journal of Food Science & Engineering* 1(2): 85.
- Seeley, Rod R., Trent D. Stephens dan Philip Tate. (2003). *Anatomy and Physiology 6th Edition*. New York: McGraw-Hill.
- Shai, A., H.I. Maibach, dan R. Baran. (Ed.). (2009). *Handbook of Cosmetic Skin Care* (Ed. 2nd). London: Informa Healthcare, 24-33, 46-57.
- Small, E. (2001). *Chapter 61 Mangosteen*. In: *Top 100 exotic food plant*. CRC Press. 381-384.
- Smith, E.W. dan J.M. Haigh. (1992). In vitro diffusion cell design and validation: Temperature, agitation and membrane effects on betamethasone 17-valerate permeation. *Acta Pharm. Nord* 4(3): 171-178.
- Suksamrarn, S., N. Suwannapoch, W. Phakhodee, J. Thanuhiranlert, P. Ratananukul, N. Chimnoi, A. Suksamrarn. (2003). Antimycobacterial activity of prenylated xanthenes from the fruits of *Garcinia mangostana*. *Chem Pharm Bull* (Tokyo) Jul;51(7): 857-859.
- Tirtawinata, M.R., Wijaya dan E. Tuherkih. (2000). *Pembibitan dan pembudidayaan manggis*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Tranggono, R. Iswari., dan F. Latifah. (2007). *Buku Pegangan Ilmu Kosmetik*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Varani, J., Warner, R.L., Gharaee-Kermani, Phan, S.H., Kang, S., Chung, J.H. (2000). Vitamin A antagonizes decreased cell growth and elevated collagen-degrading matrix metalloproteinases and stimulates collagen accumulation in naturally aged human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 114(3), 480-486.

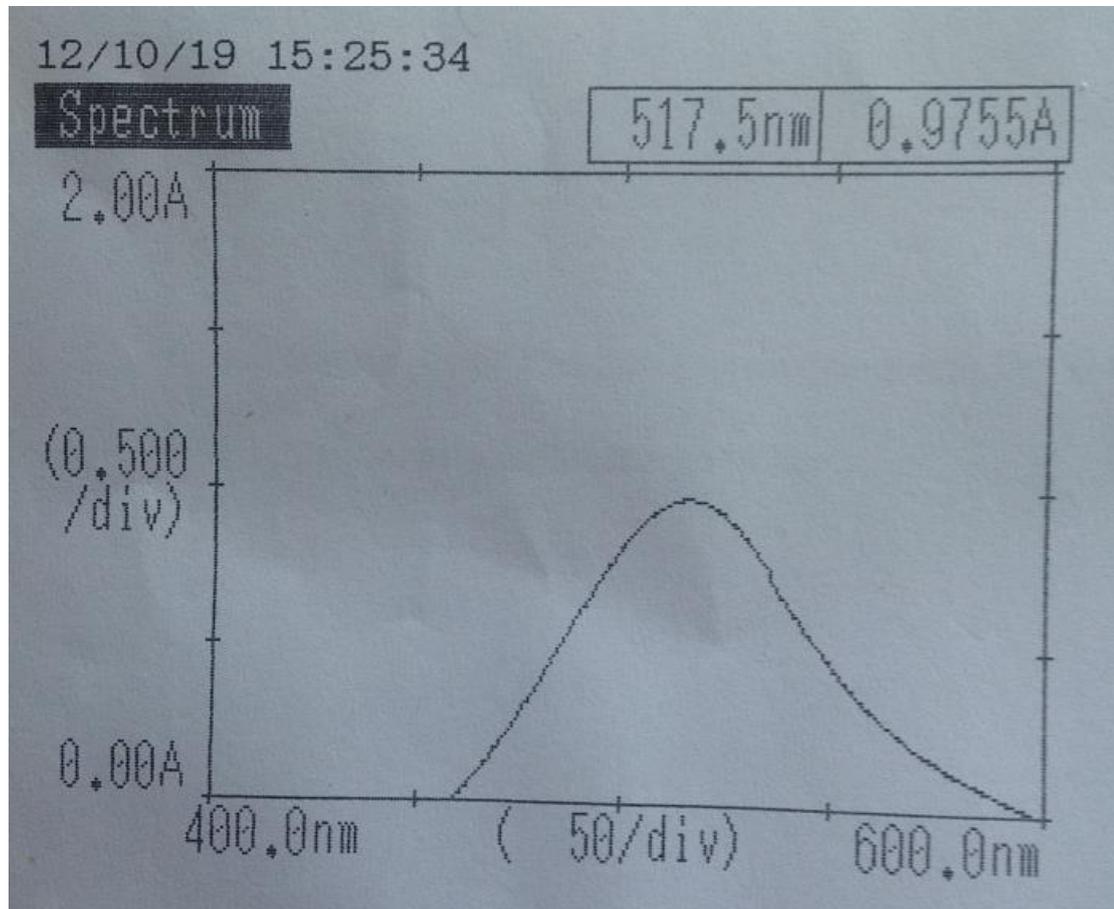
- Verma, DD., S. Verma , G. Blume, A. Fahr. (2003). Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. *International Journal of Pharmaceutics* 258: 141–151.
- Venkateswarlu, I., *et al.* (2011). A Review on Liposomes. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2: 739-751.
- Wade, A. and Weller, P.J. (1994). *Handbook of pharmaceutical excipients*. 2nd ed. London: The Pharmaceutical Press.
- Walters, K. A dan Jonathan H. (1993). *Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement*. New York: Marcell Dekker Inc., 335-361.
- Wang, Ying-Yue, Chi-Tzong Hong, Wen-Ta Chiu, Jia-You Fang. (2001). In Vitro and In Vivo Evaluations of Topically Applied Capsaicin and Nonivamide from Hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics* (224), 89-104.
- Wasitaatmadja, S.M. (1997). *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: UI Press.
- Wasitaatmadja, S.M. (2010). *Anatomi kulit*. Dalam: Juanda, A. *Ilmu penyakit kulit dan kelamin*. Edisi ke-6. Penerbit FK UI, Jakarta.
- Wenny. (2012). Formulasi dan uji stabilitas fisik gel liposom yang mengandung fraksinasi ekstrak metanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai antioksidan. Skripsi Sarjana Farmasi Universitas Indonesia: 97 hlm.
- Wester, R. C., & Maibach, H. I. (1990) *In vitro testing of topical pharmaceutical formulations*. Dalam: *Topical drug delivery formulations*. New York: Marcel Dekker Inc.
- WHO. 2009. *Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products*. World Health Organization Technical Report Series No.953.
- Williams, AC. (2003). *Transdermal and Topical Drug Delivery*. London, Pharmaceutical Press.
- Witt, Krista dan D. Bucs. (2003). Studying In Vitro Skin Penetration and Drug Release to Optimize Dermatological Formulations. In *Pharmaceutical Technology*. USA: Advanstar Communication Inc.
- Yaar, M. dan B.A. Gilchrest. (2007). Photoageing: Mechanism, Prevention and Therapy. *British Journal of Dermatology*, 157, 874–887.

Zats, J. L. dan Kushla, G. P. (1996). Gels. In H. A. Lieberman, M. M. Rieger dan G.S. Banker (Ed.). *Pharmaceutical dosage forms: Disperse systems (2nd Ed., Vol.2, pp. 507)*. New York: Marcel Dekker.

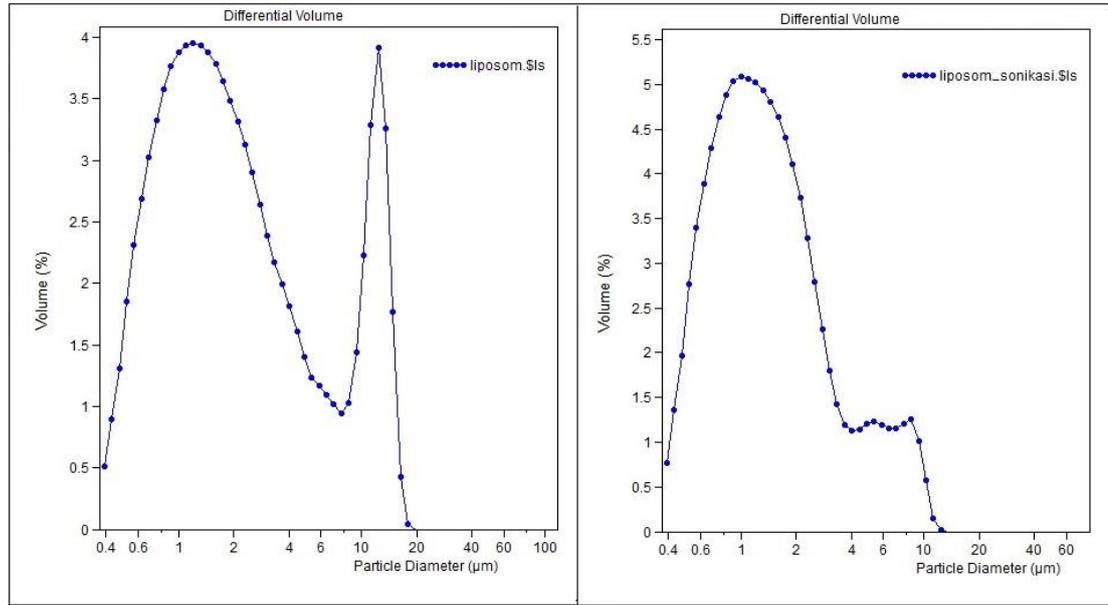
Lampiran 1. Kurva serapan maksimum standar α -mangostin hasil deteksi *TLC*
Scanner CAMAG



Lampiran 2. Penentuan panjang gelombang maksimum untuk uji antioksidan dengan metode peredaman DPPH



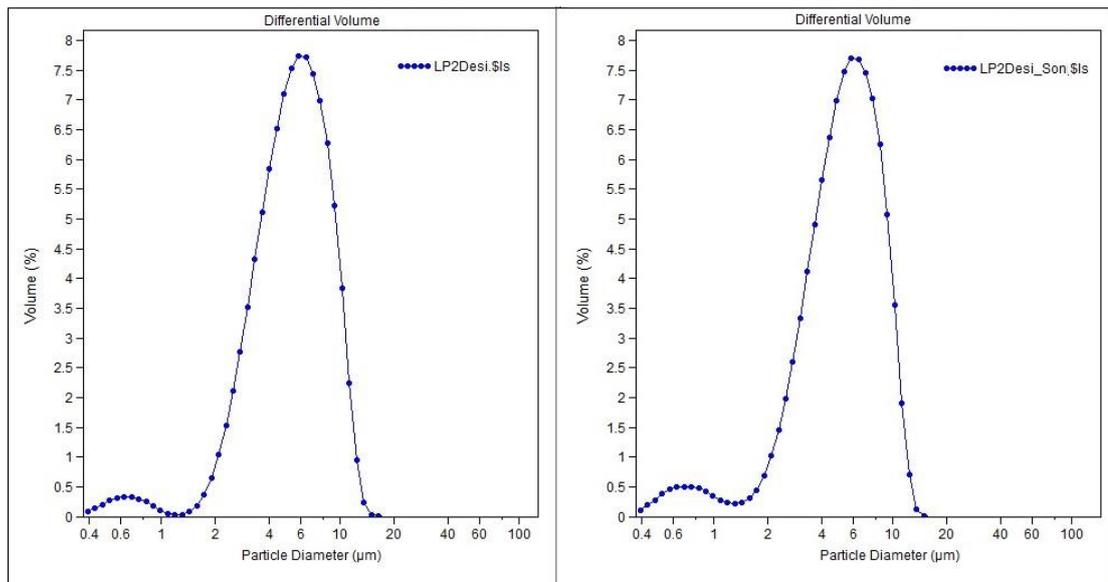
Lampiran 3. Hasil analisis PSA liposom (a) tanpa dan (b) dengan sonikasi



(a)

(b)

Percobaan pertama

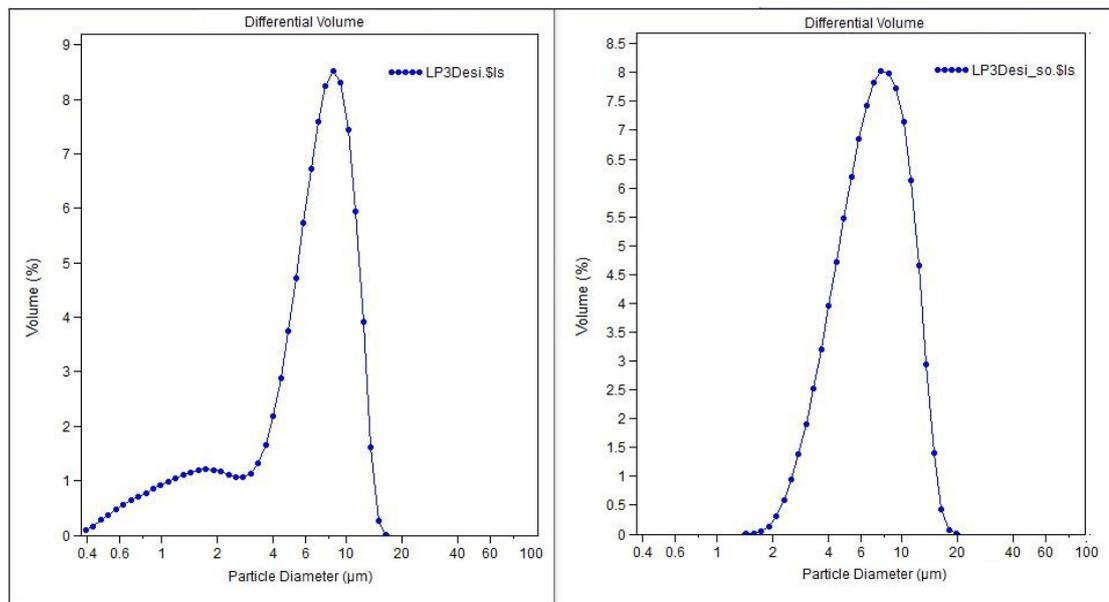


(a)

(b)

Hasil analisis PSA liposom percobaan ke-2

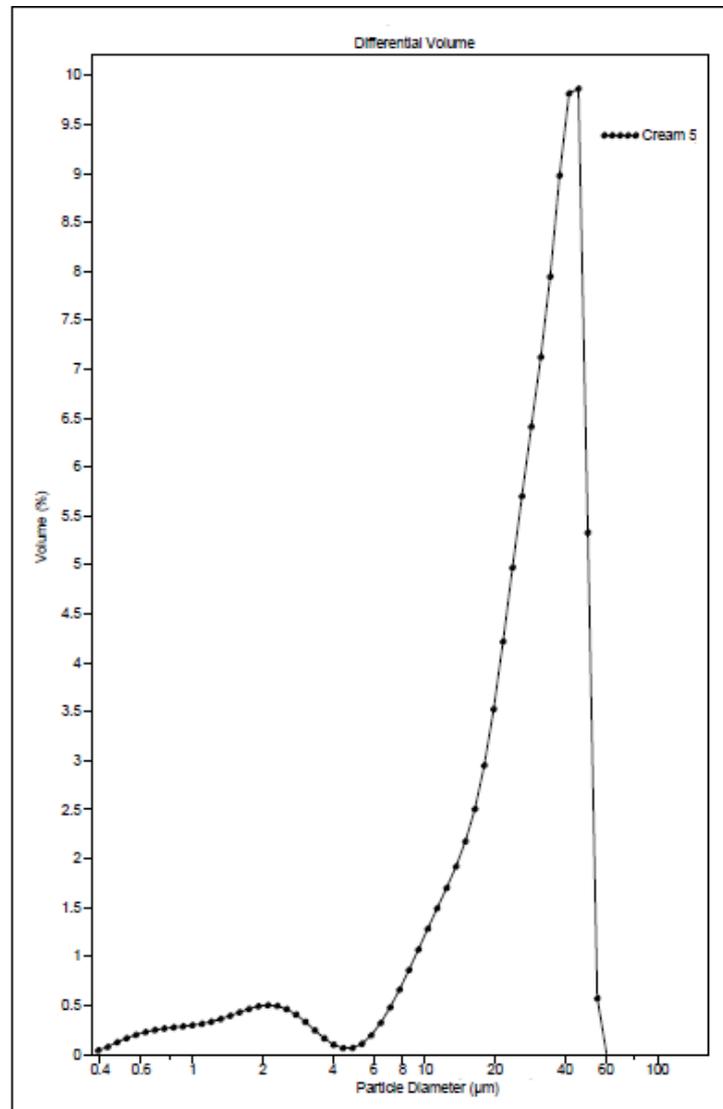
(lanjutan)



(a)

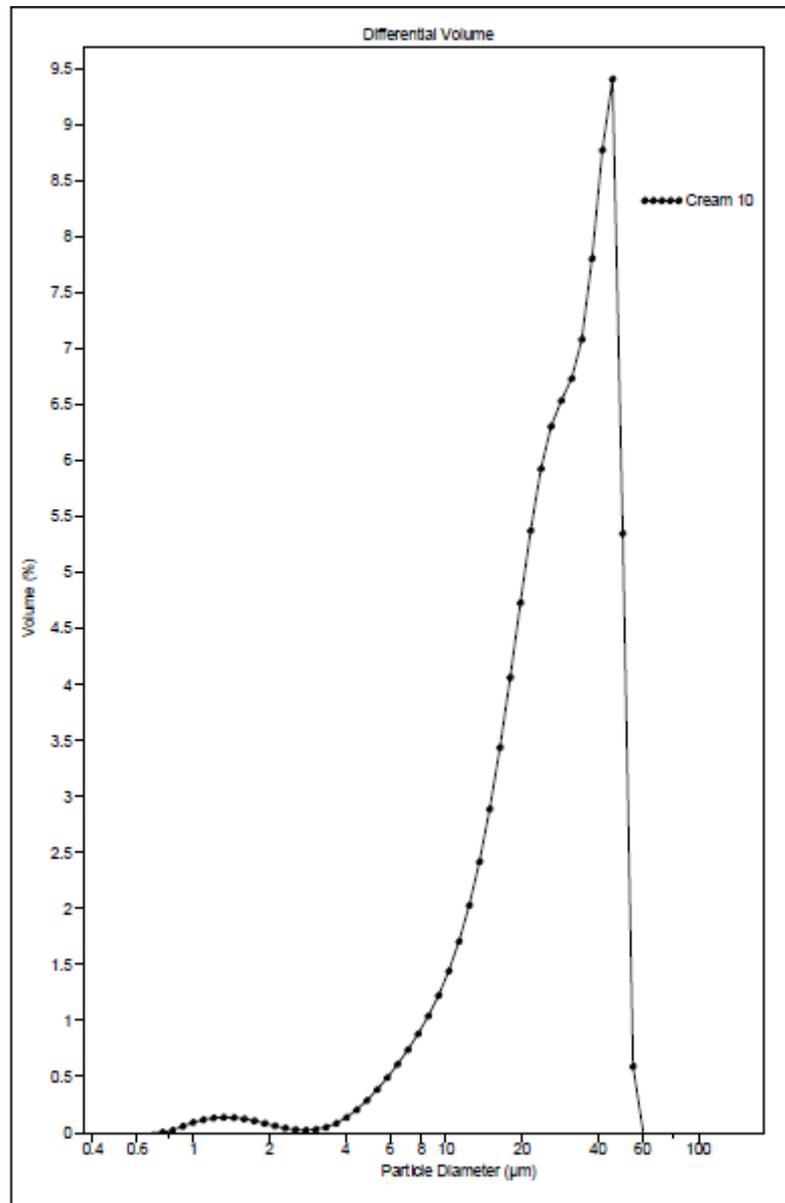
(b)

Hasil analisis PSA liposom percobaan ke-3

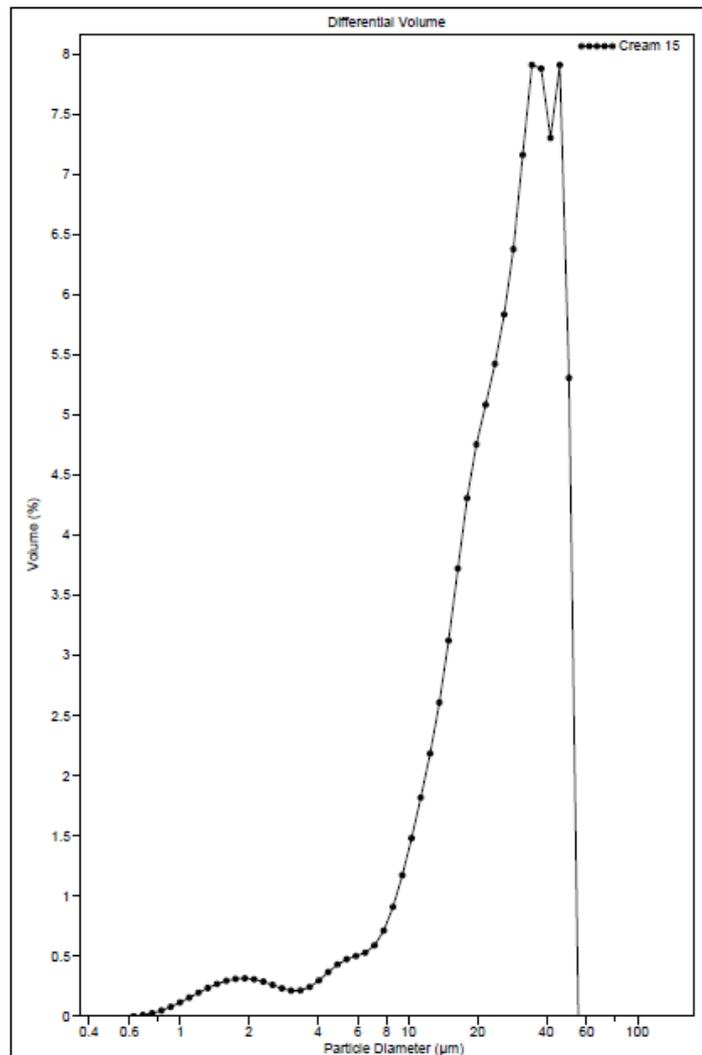
Lampiran 4. Hasil analisis PSA sediaan krim

Krim liposom 5%

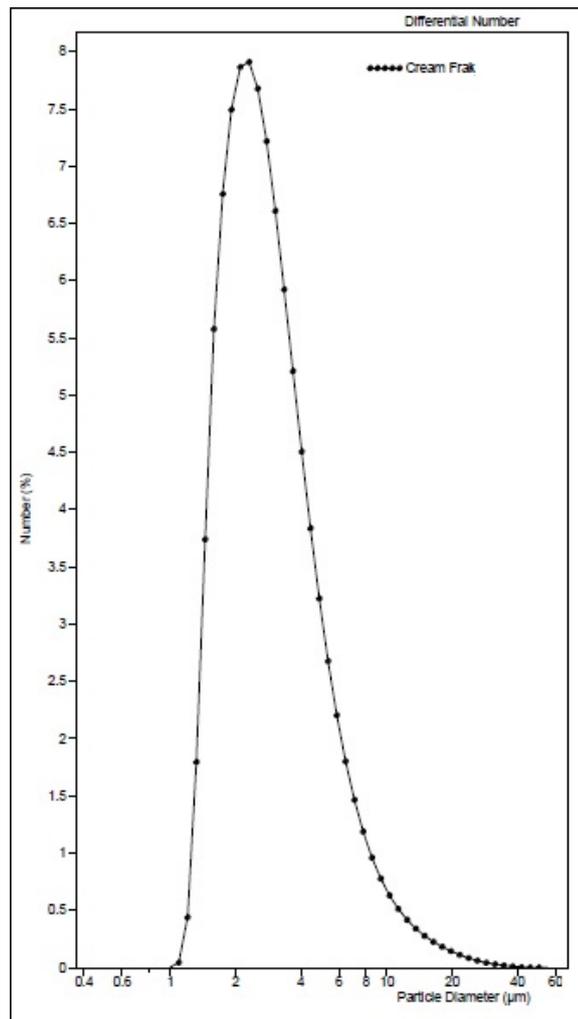
(lanjutan)



Analisis PSA Krim liposom 10%

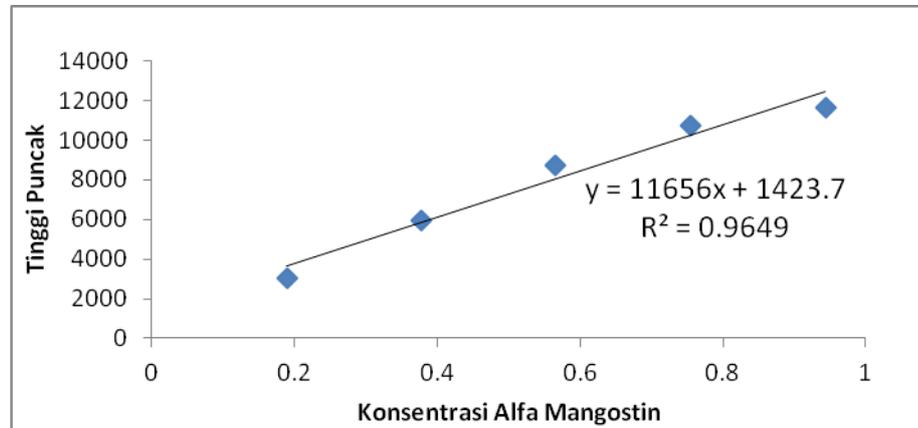


Hasil analisis PSA sediaan krim liposom 15%



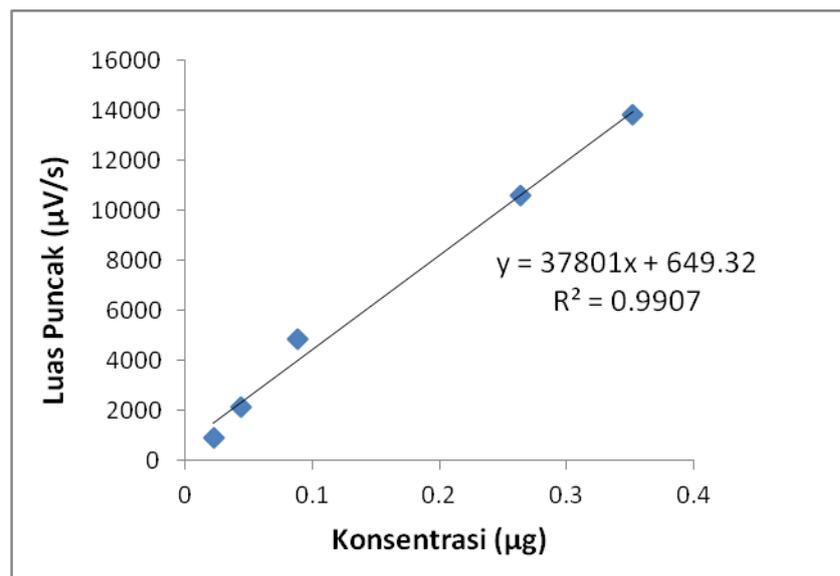
Hasil analisis PSA sediaan krim fraksi diklorometana

Lampiran 5. Kurva kalibrasi α -mangostin dalam perhitungan efisiensi penyerapan dan penentuan kadar α -Mangostin dalam fraksi



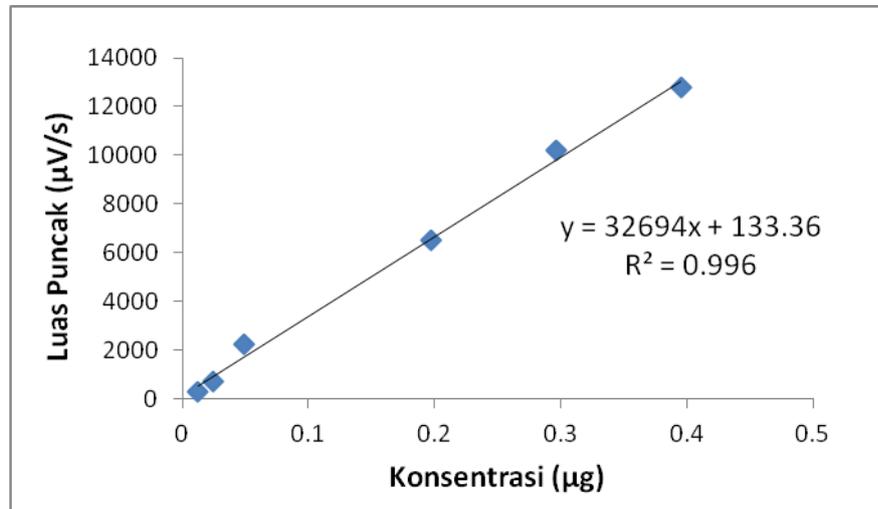
Keterangan: Panjang gelombang yang digunakan saat analisis ialah 391 nm.
Nilai $r = 0,98$

Lampiran 6. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk Uji Perolehan Kembali



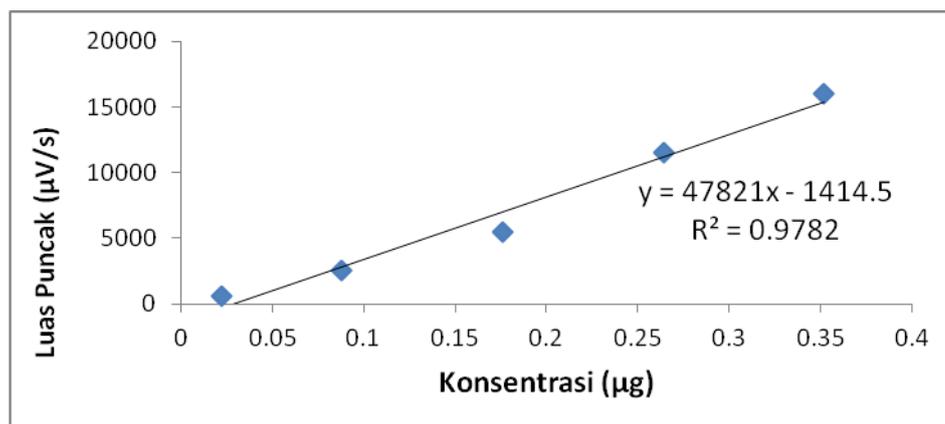
Keterangan: Panjang gelombang yang digunakan saat analisis ialah 391 nm.
Nilai $r = 0,995$

Lampiran 7. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan krim liposom 5%



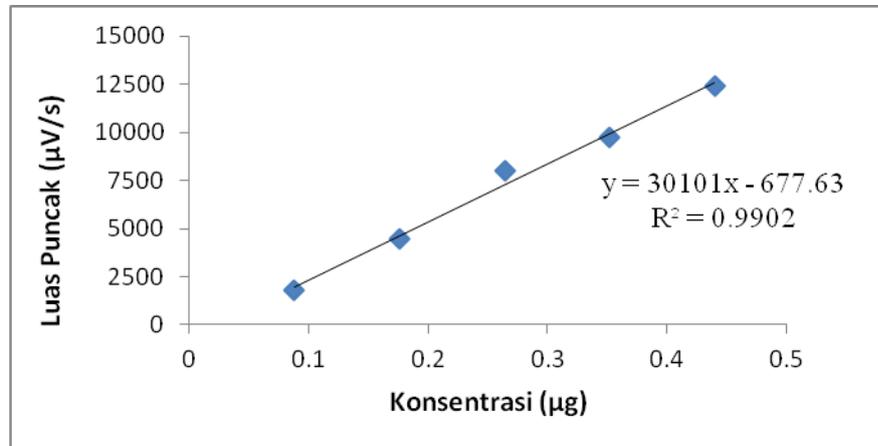
Keterangan: Panjang gelombang yang digunakan saat analisis ialah 391 nm.
Nilai $r = 0,998$

Lampiran 8. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan krim liposom 10%



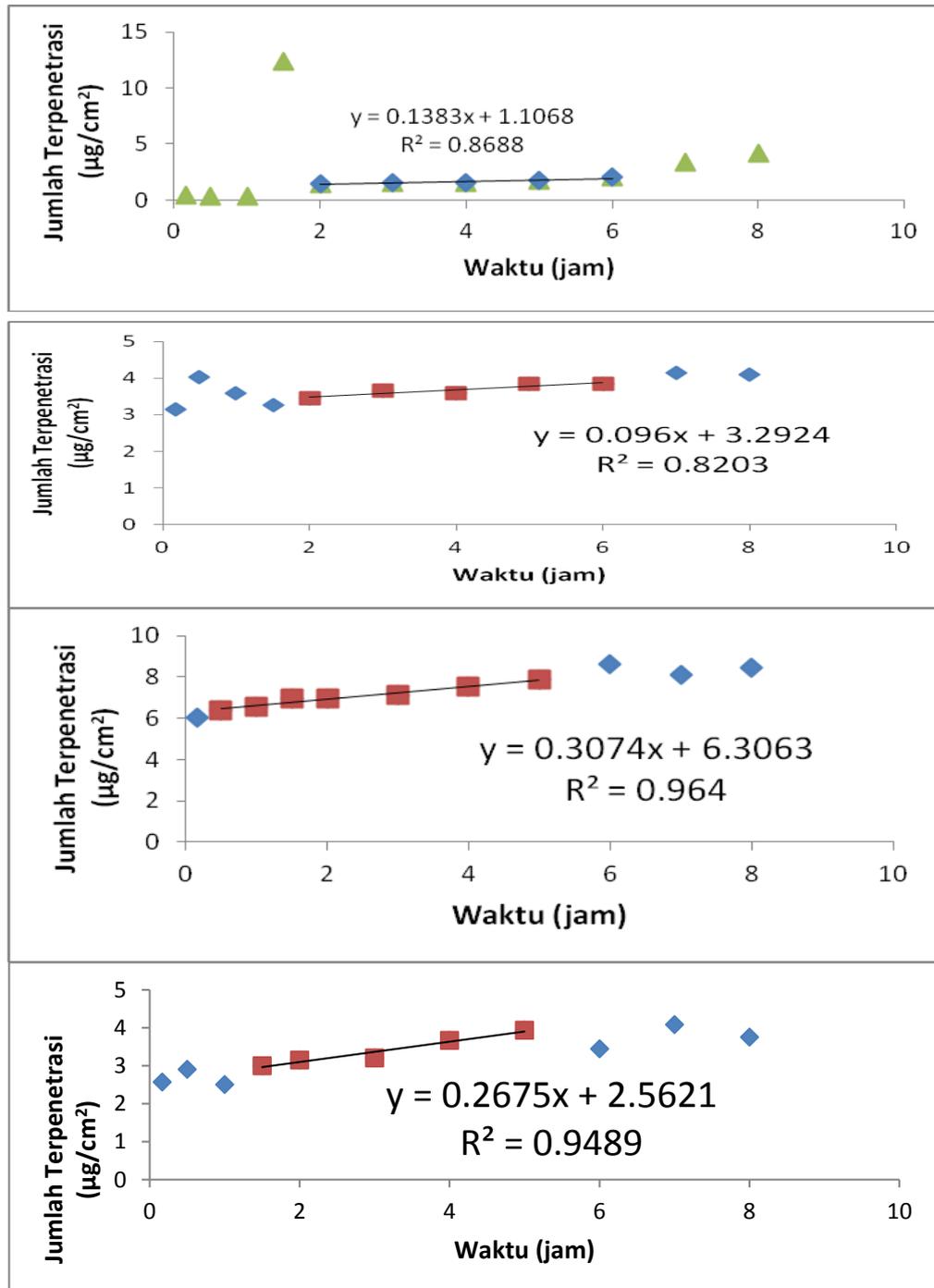
Keterangan: Panjang gelombang yang digunakan saat analisis ialah 391 nm.
Nilai $r = 0,989$

Lampiran 9. Kurva kalibrasi standar α -Mangostin untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan krim liposom 15% dan sediaan fraksi diklorometana

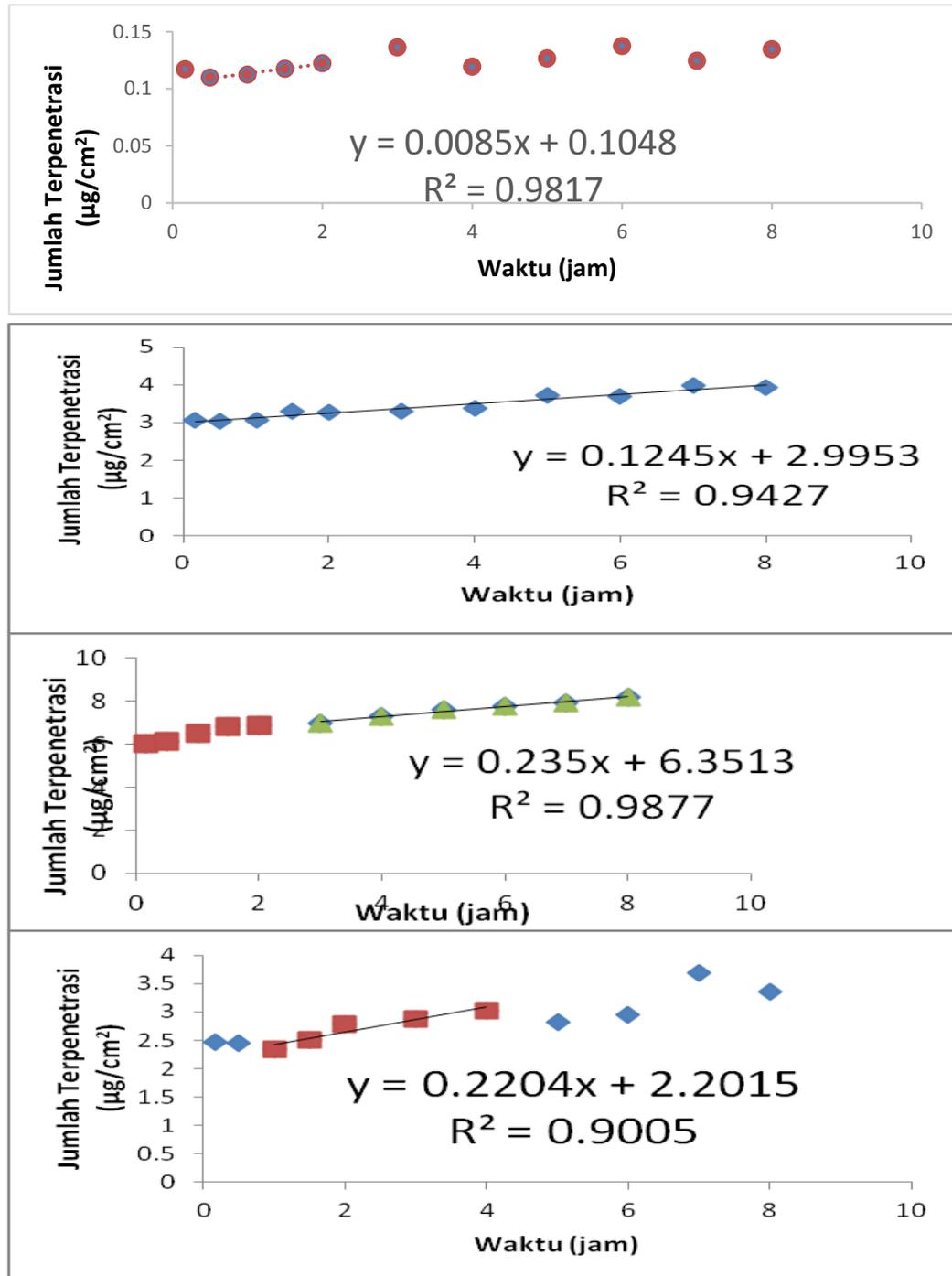


Keterangan: Panjang gelombang yang digunakan saat analisis ialah 391 nm.
Nilai $r = 0,995$

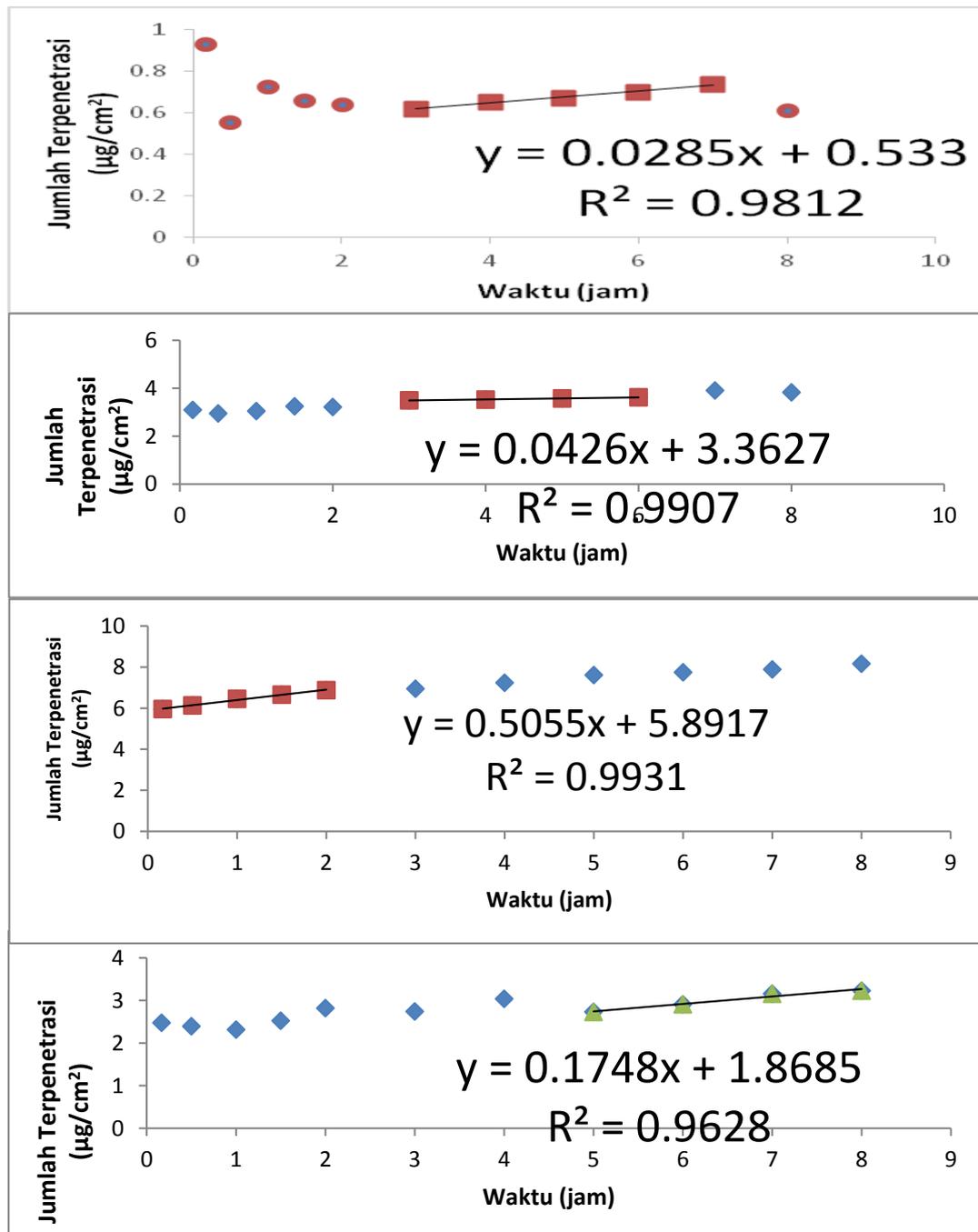
Lampiran 10. Jumlah kumulatif α -Mangostin yang terpenetrasi per satuan waktu pada membran percobaan 1 dari sediaan krim liposom (a) 5%, krim liposom (b) 10%, krim liposom (c) 15%, dan krim (d) fraksi diklorometana

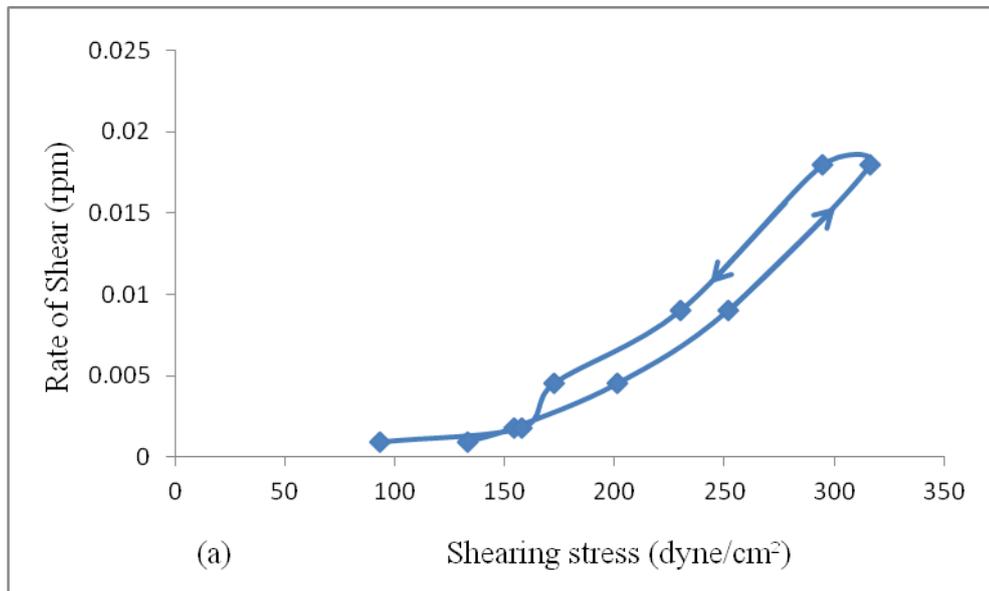


Lampiran 11. Jumlah kumulatif α -Mangostin yang terpenetrasi per satuan waktu pada membran percobaan 2 dari sediaan krim liposom (a) 5%, krim liposom (b) 10%, krim liposom (c) 15%, dan krim (d) fraksi diklorometana

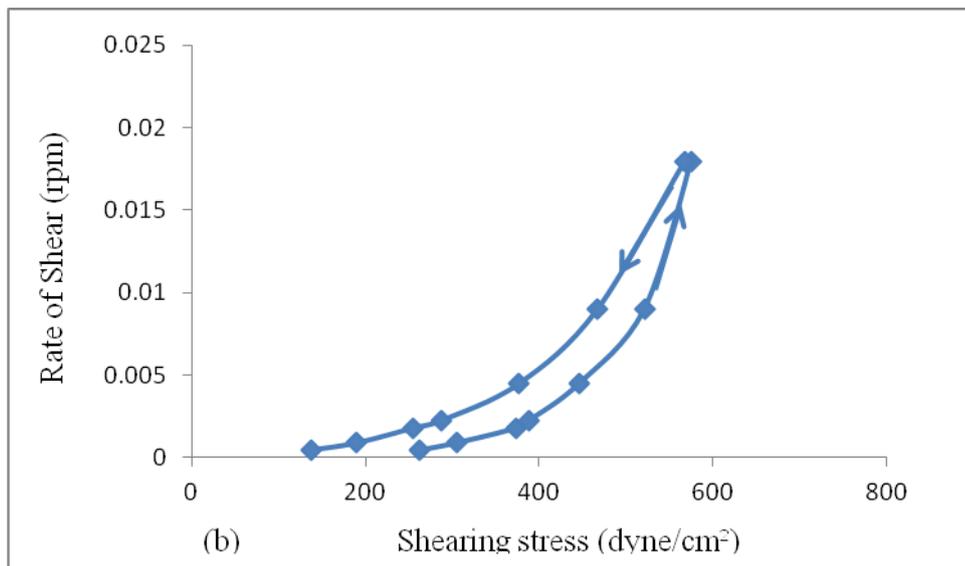


Lampiran 12. Jumlah kumulatif α -Mangostin yang terpenetrasi per satuan waktu pada membran percobaan 3 dari sediaan krim liposom (a) 5%, krim liposom (b) 10%, krim liposom (c) 15%, dan krim (d) fraksi diklorometana

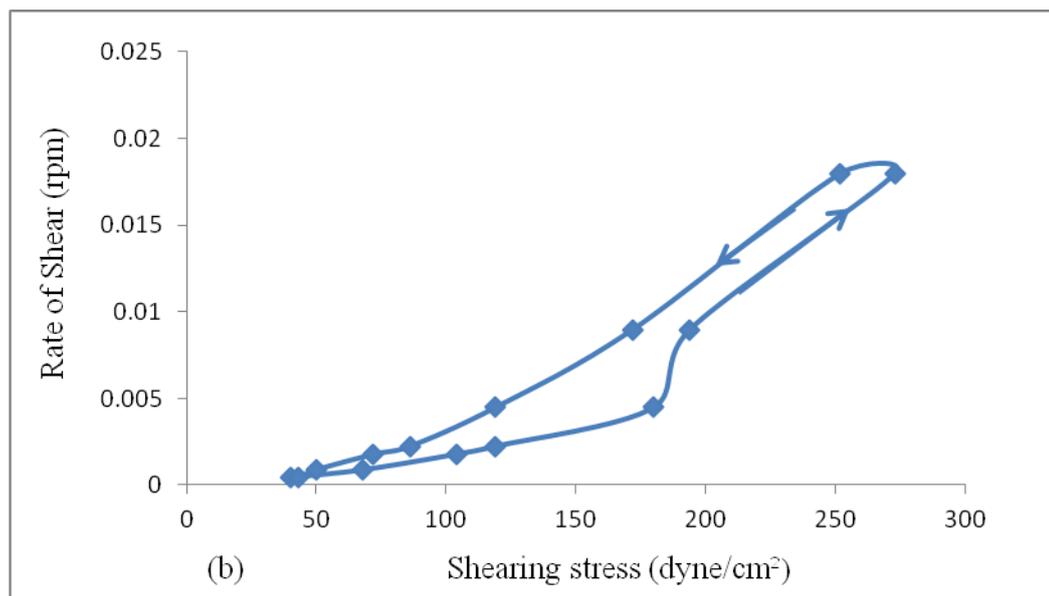
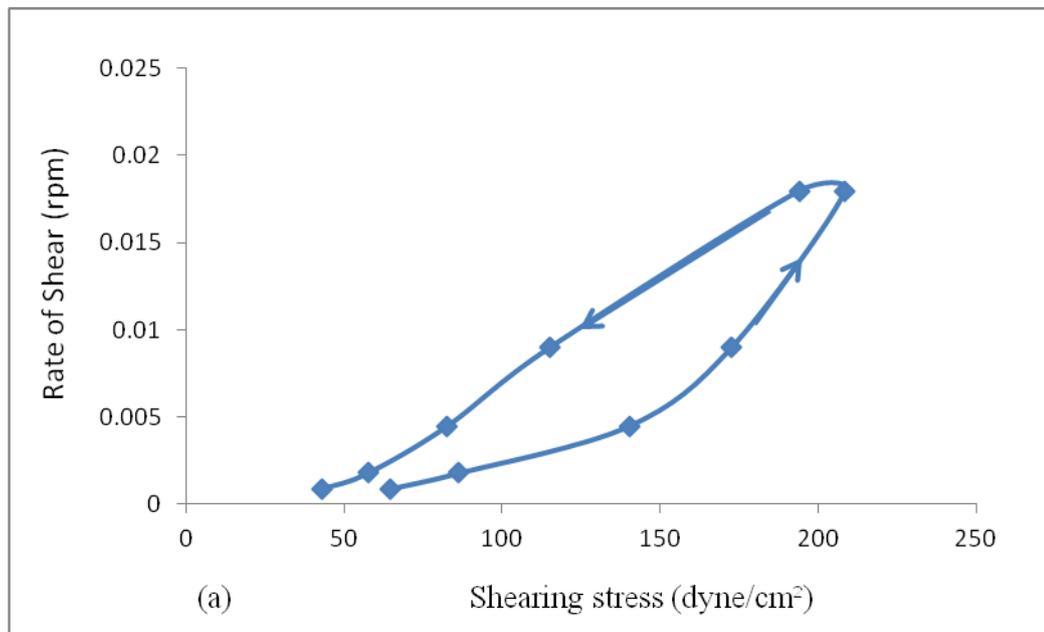


Lampiran 13. Rheogram krim blanko pada minggu ke-0 (a) dan ke-12 (b)

(a)

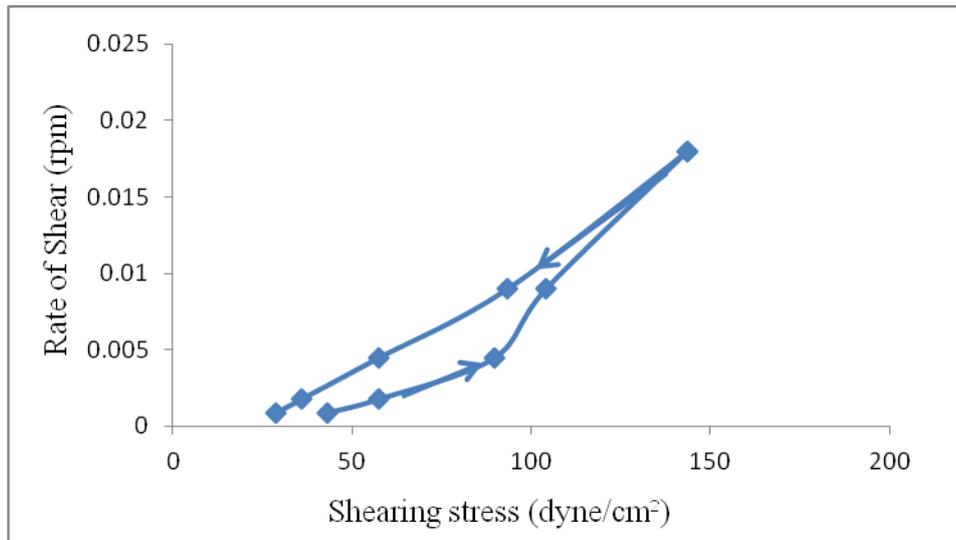


(lanjutan)

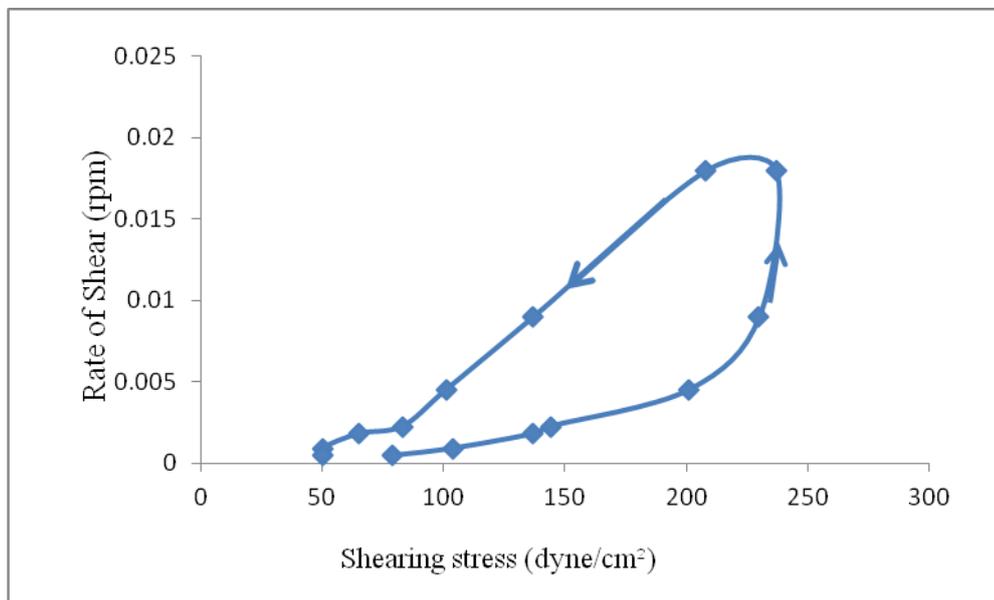


Rheogram krim liposom 5% pada minggu ke-0 (a) dan ke-12 (b)

(lanjutan)



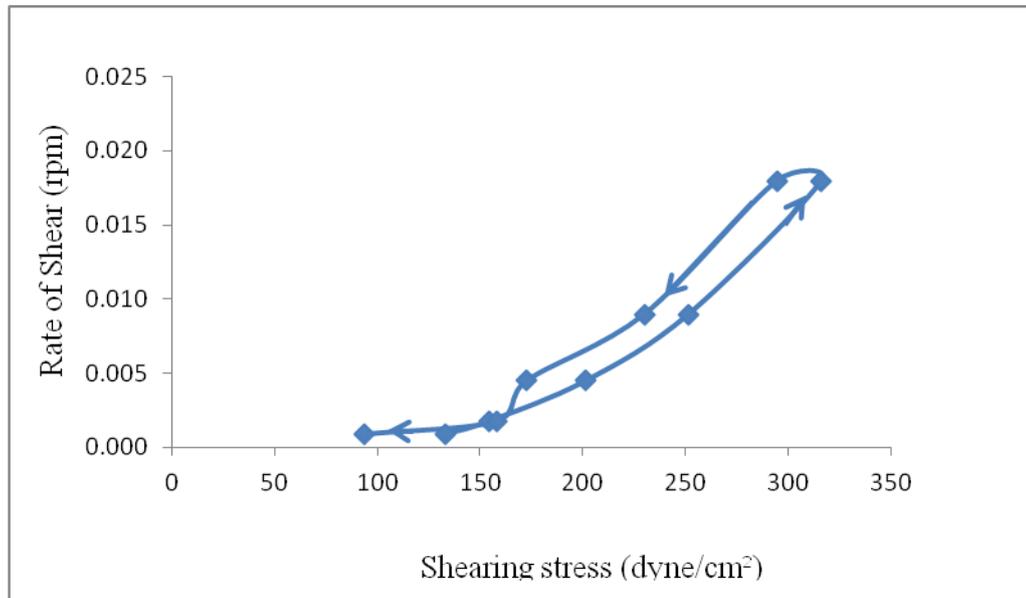
(a)



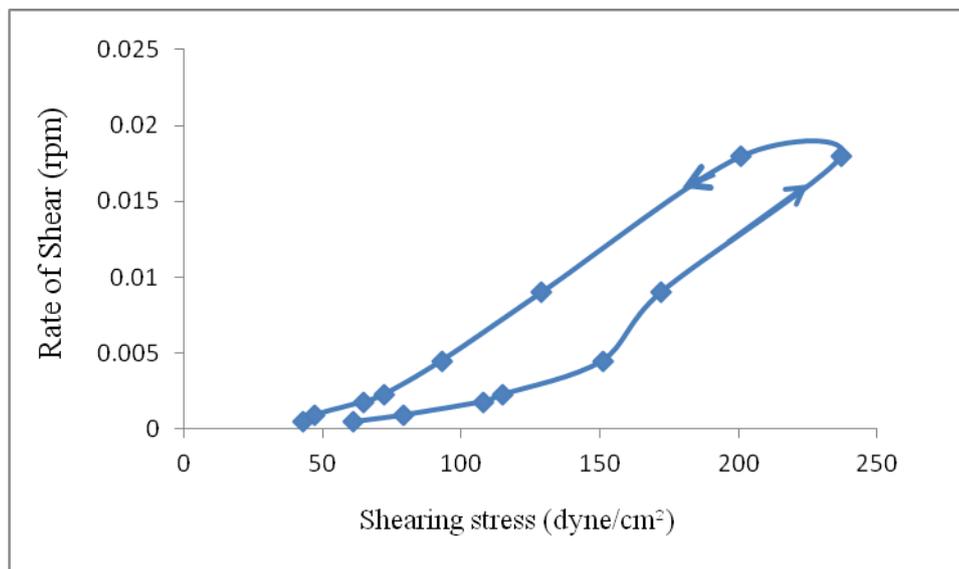
(b)

Rheogram sediaan krim liposom 10% pada minggu ke-0 (a) dan ke-12 (b)

(lanjutan)



(a)

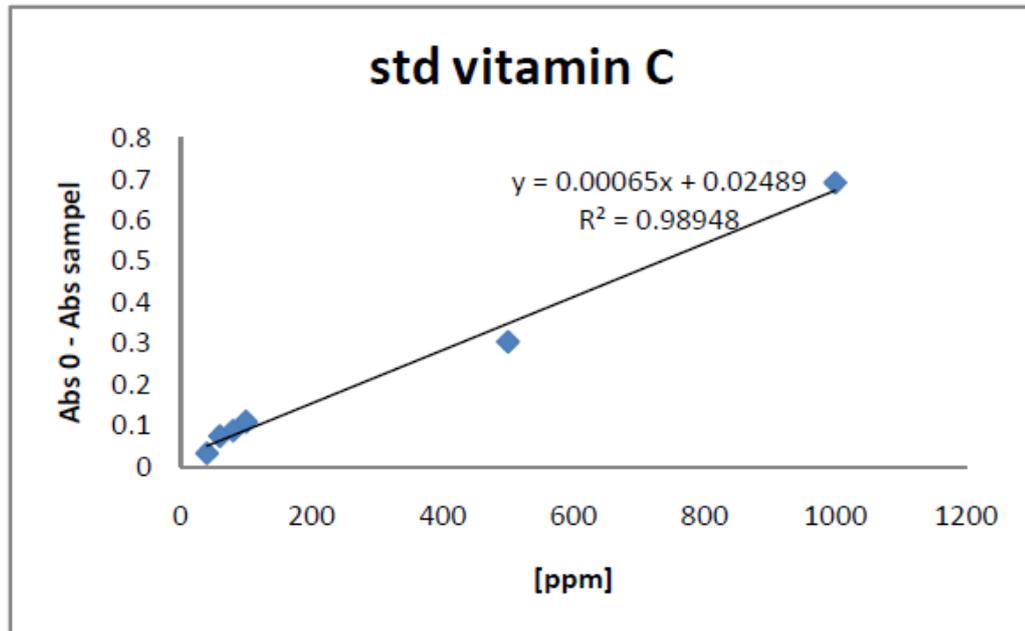


(b)

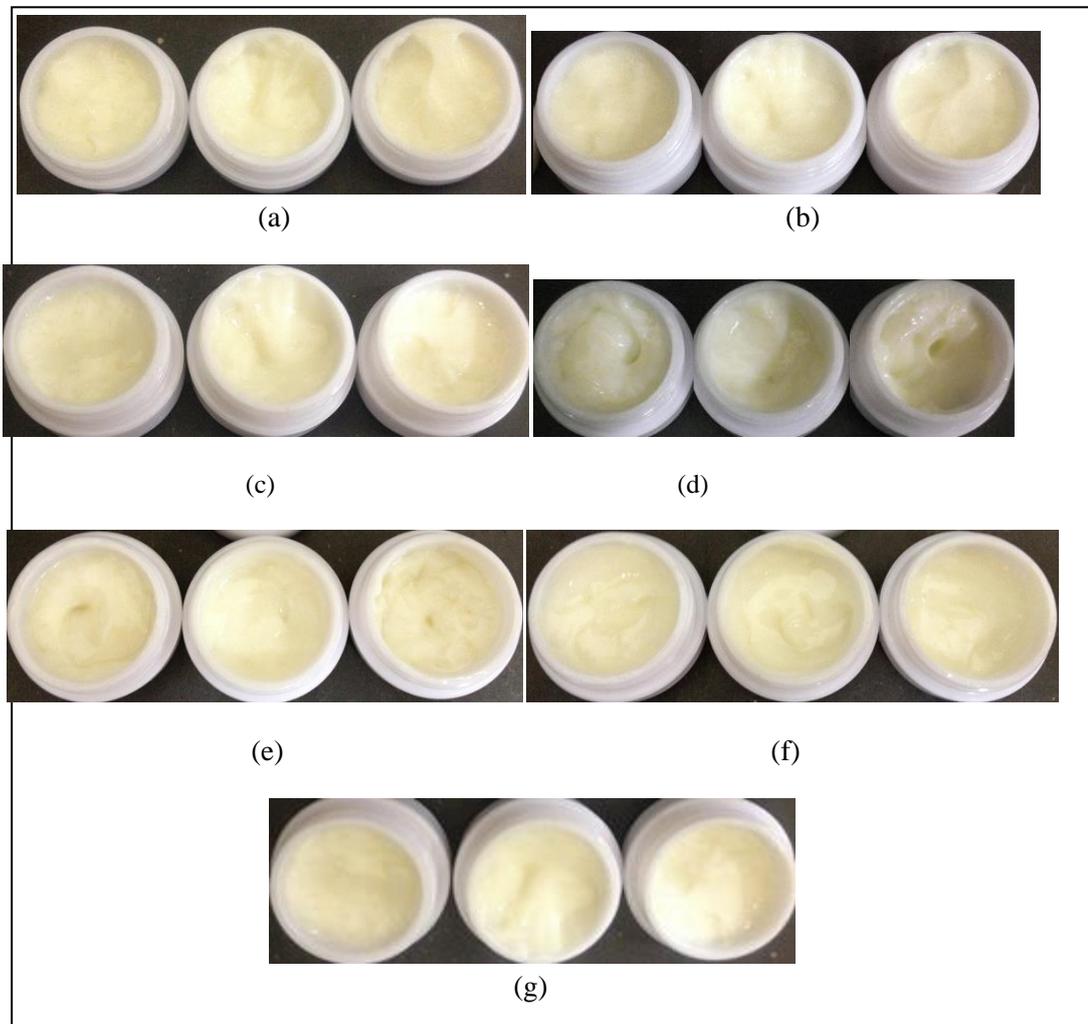
Rheogram sediaan krim liposom 15% pada minggu ke-0 (a) dan ke-12 (b)

Lampiran 14. Kurva kalibrasi kontrol positif pada Uji Aktivitas Antioksidan dengan

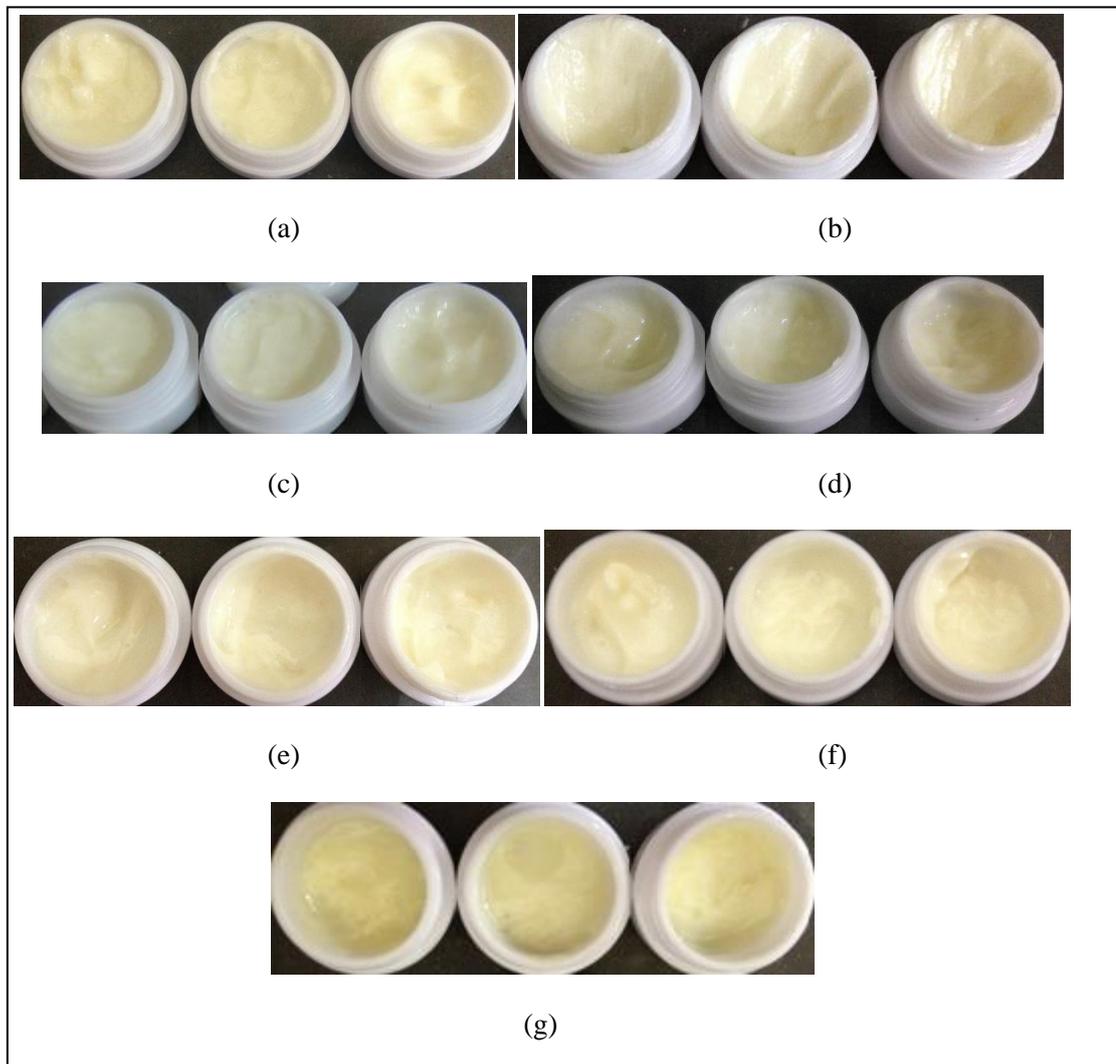
metode DPPH menggunakan *mikroplate reader*



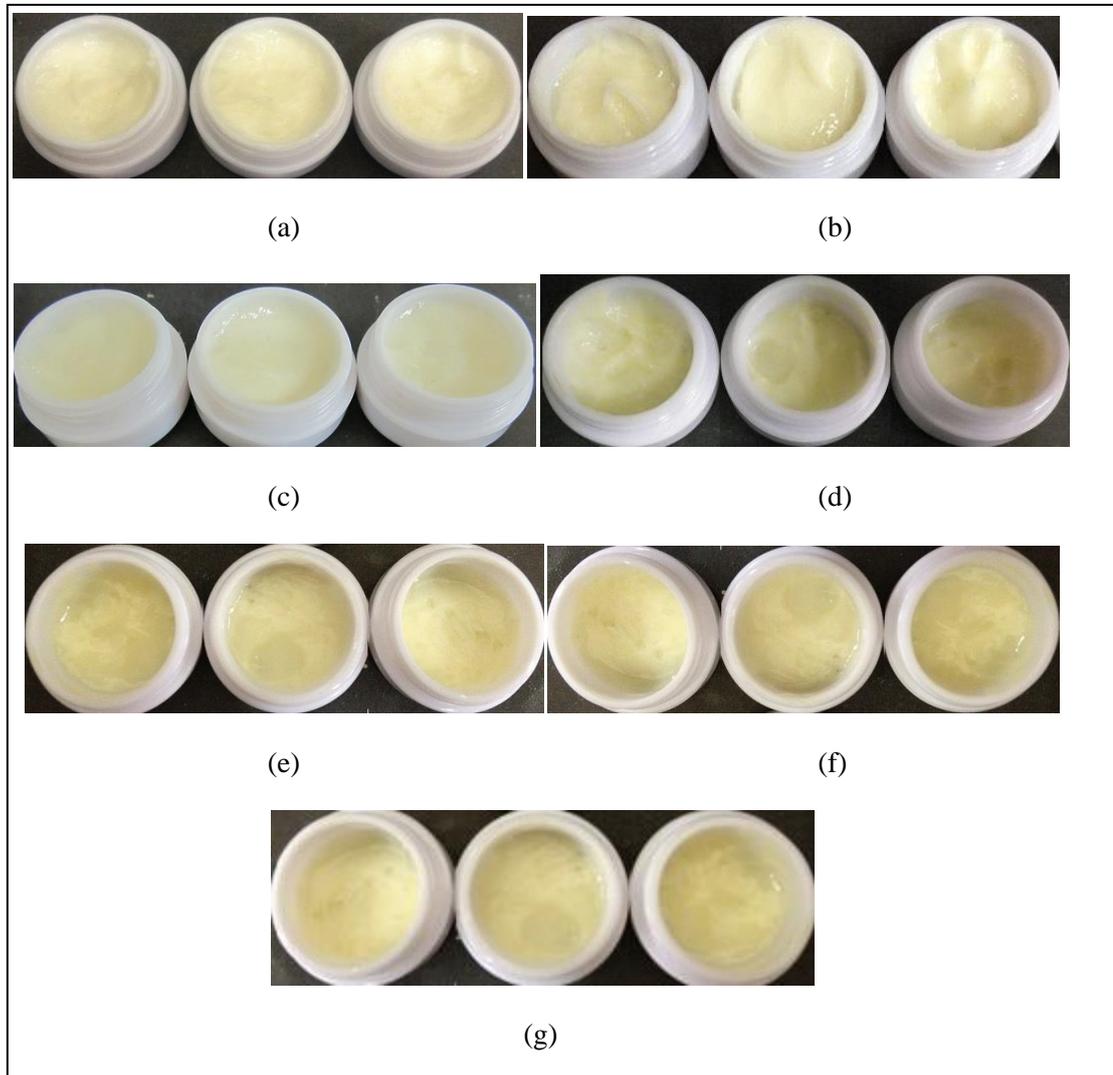
Lampiran 15. Uji stabilitas krim liposom 5% penyimpanan pada suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$); (a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6; (e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10; (g) minggu ke-12



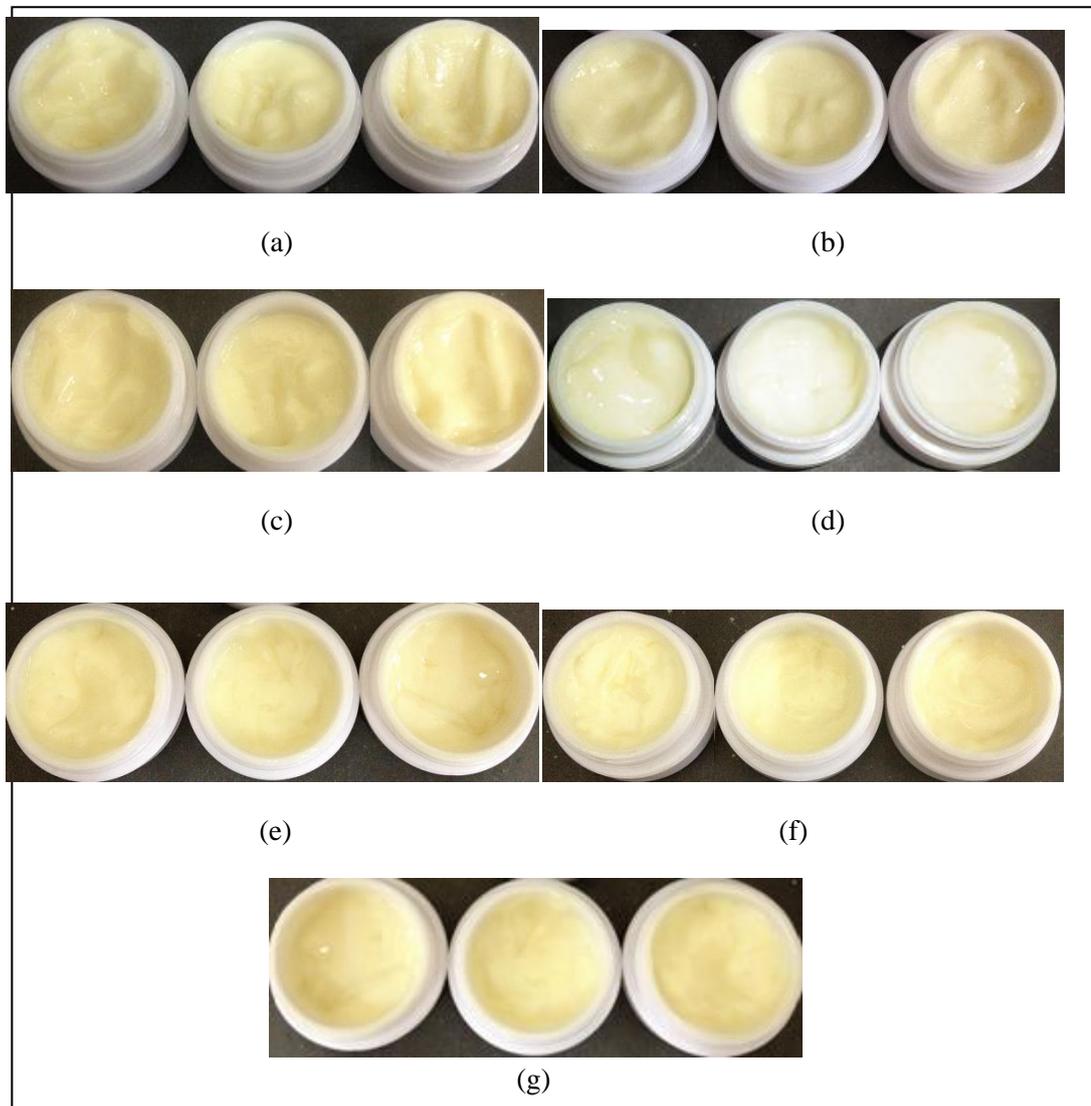
Lampiran 16. Uji stabilitas krim liposom 5% penyimpanan pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$); (a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6; (e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10; (g) minggu ke-12



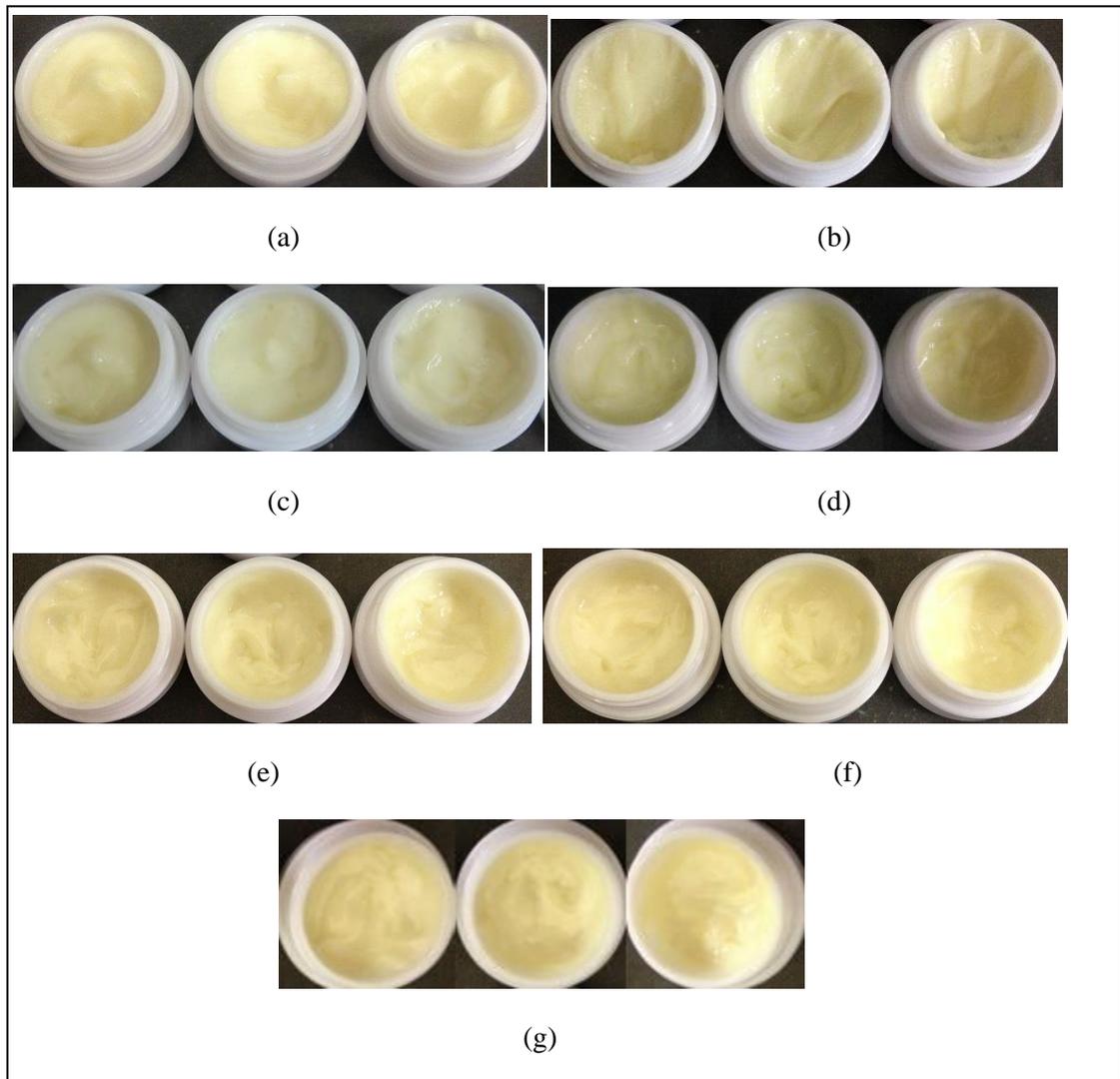
Lampiran 17. Uji stabilitas krim liposom 5% penyimpanan pada suhu tinggi (40°C); (a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6; (e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10; (g) minggu ke-12



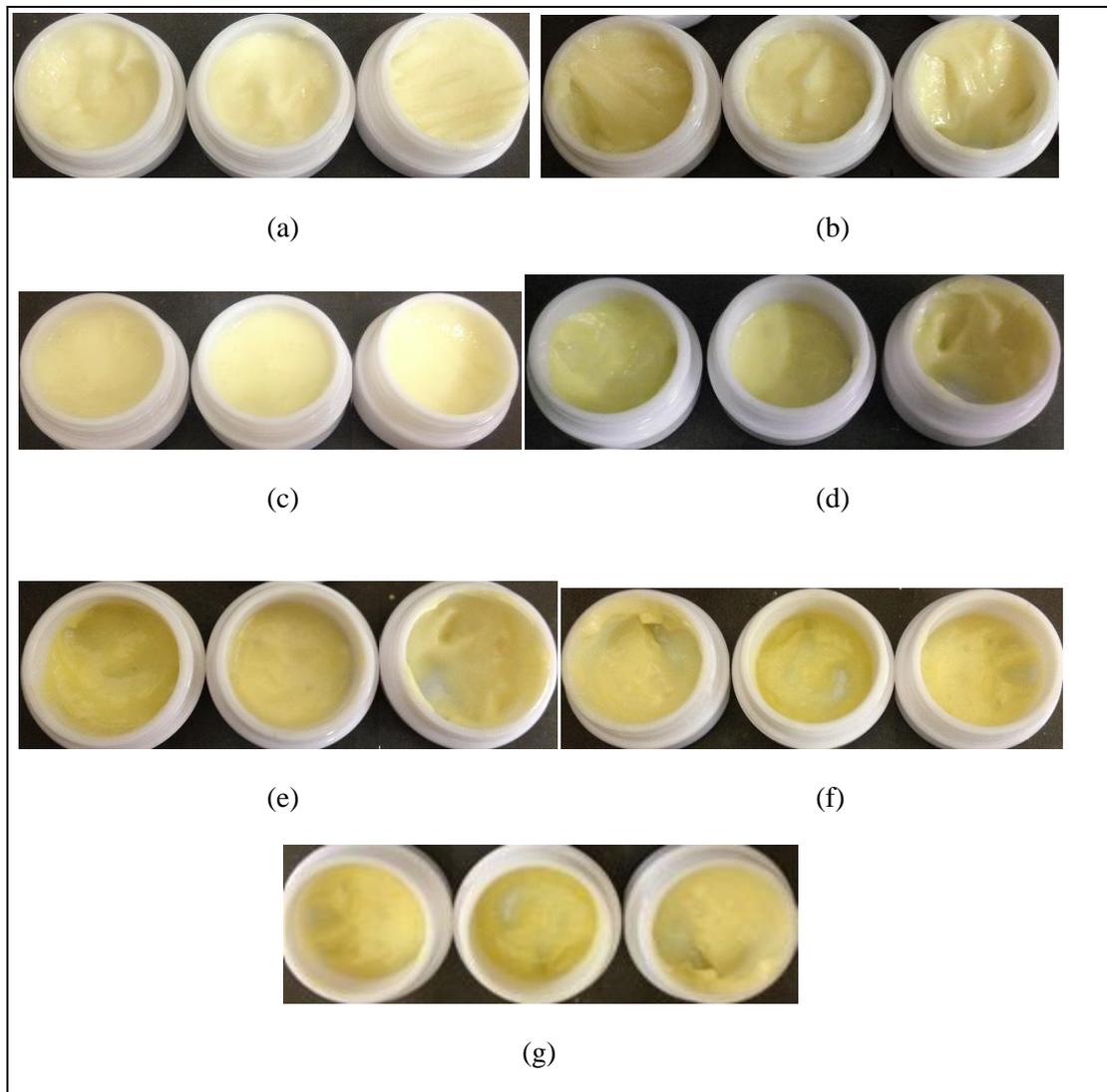
Lampiran 18. Uji stabilitas krim liposom 10% penyimpanan pada suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$); (a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6; (e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10; (g) minggu ke-12



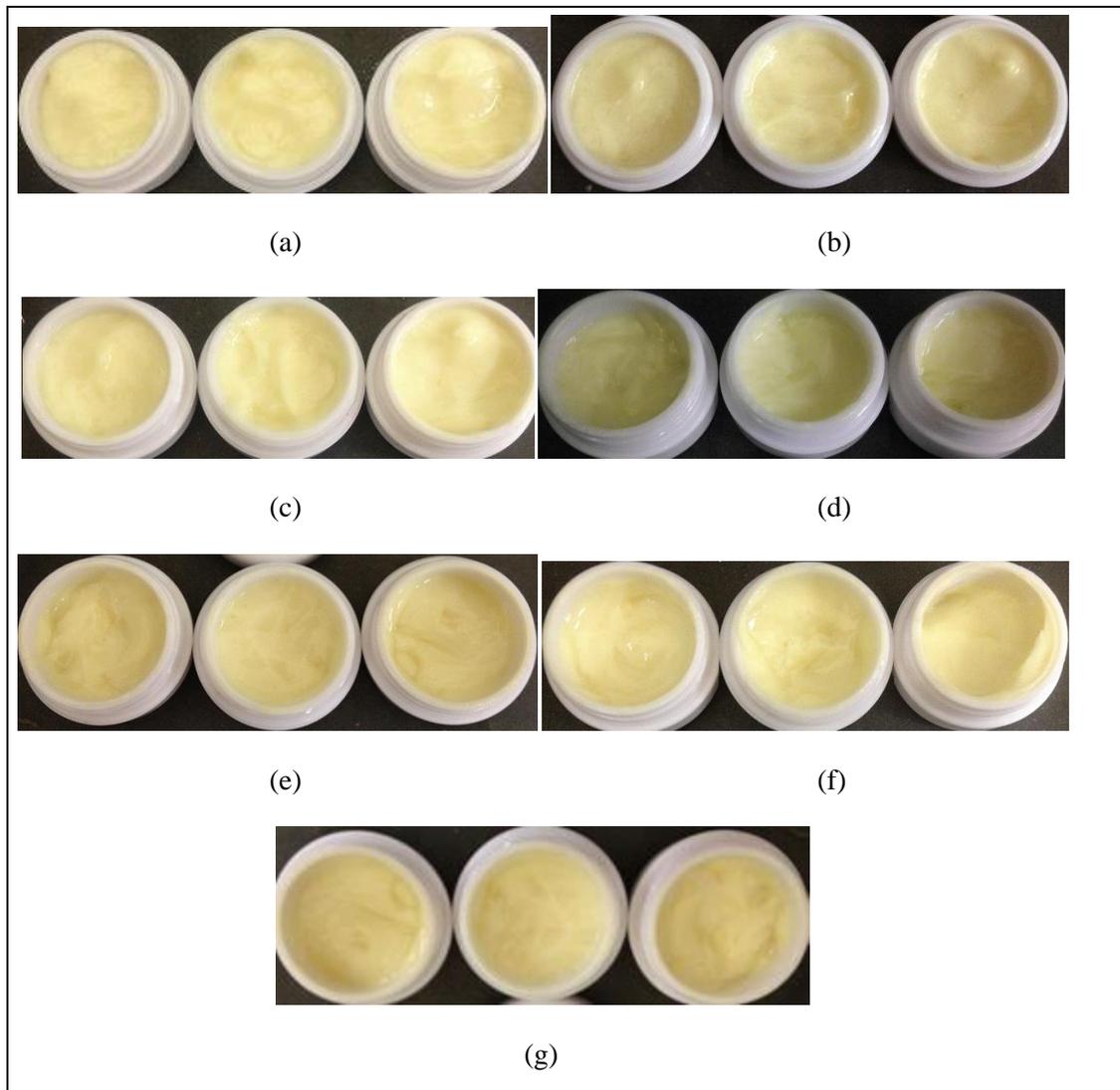
Lampiran 19. Uji stabilitas krim liposom 10% penyimpanan pada suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$); (a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6; (e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10.



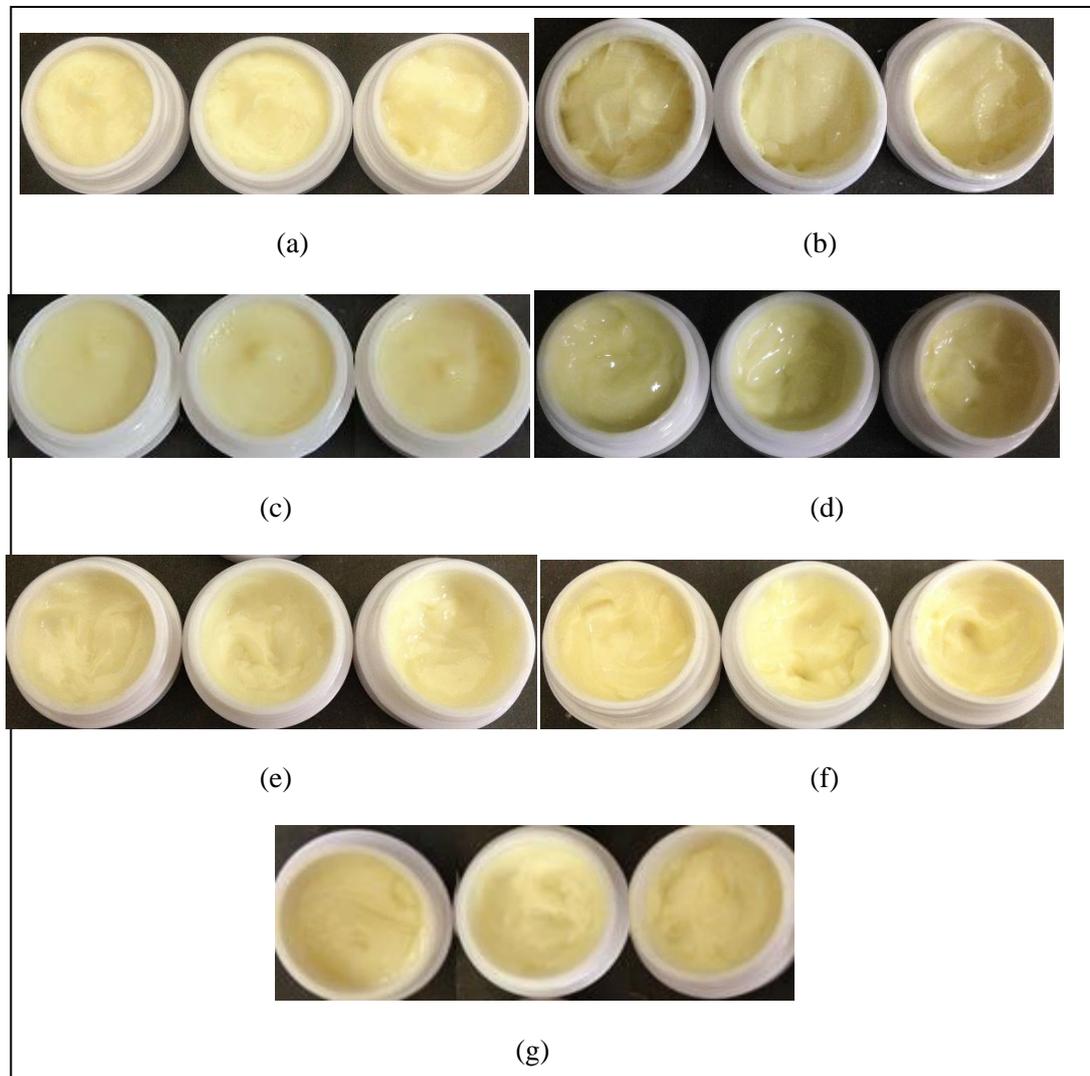
Lampiran 20. Uji stabilitas krim liposom 10% penyimpanan pada suhu tinggi (40°C); (a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6; (e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10; (g) minggu ke-12



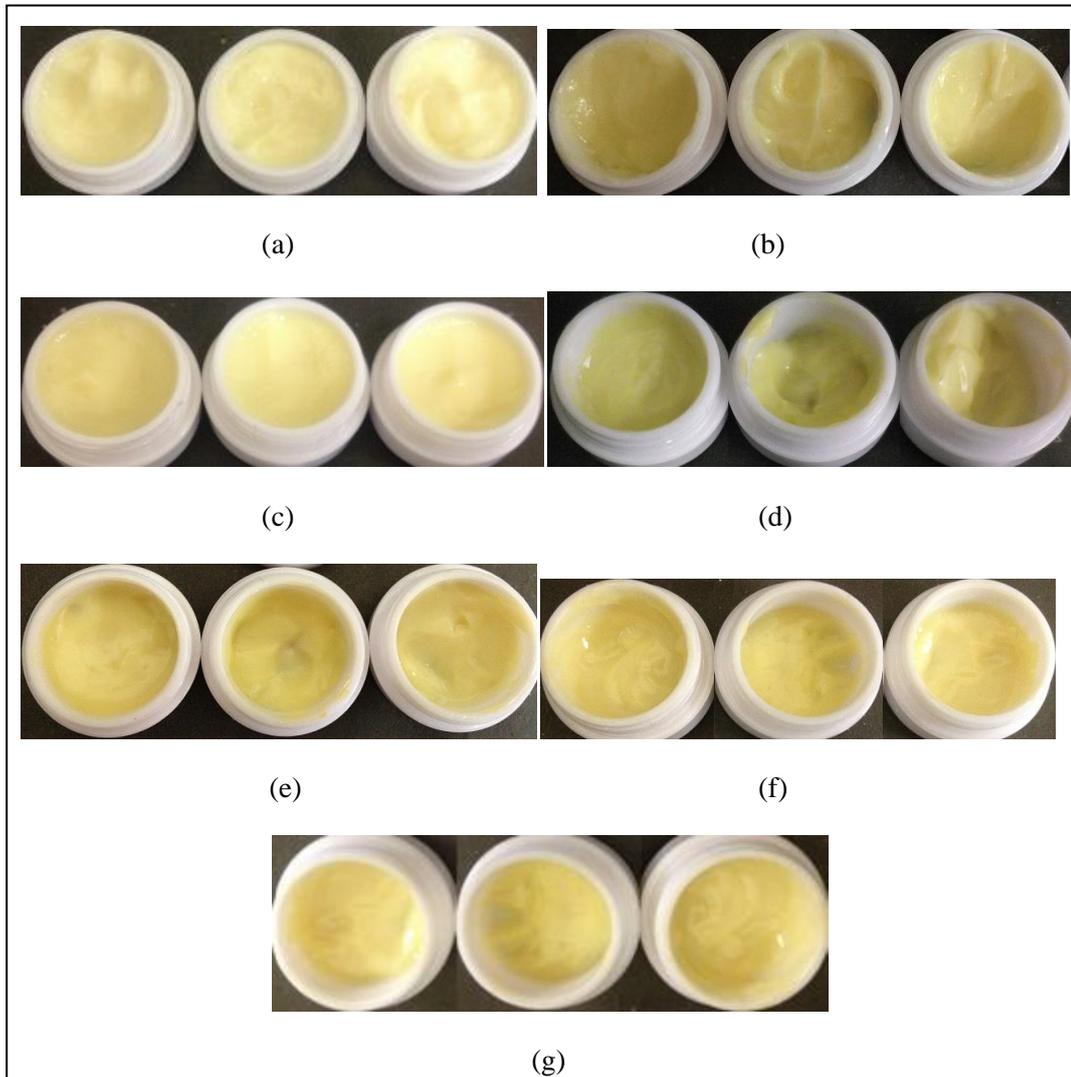
Lampiran 21. Uji stabilitas krim liposom 15% penyimpanan pada suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$); (a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6; (e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10; (g) minggu ke-12



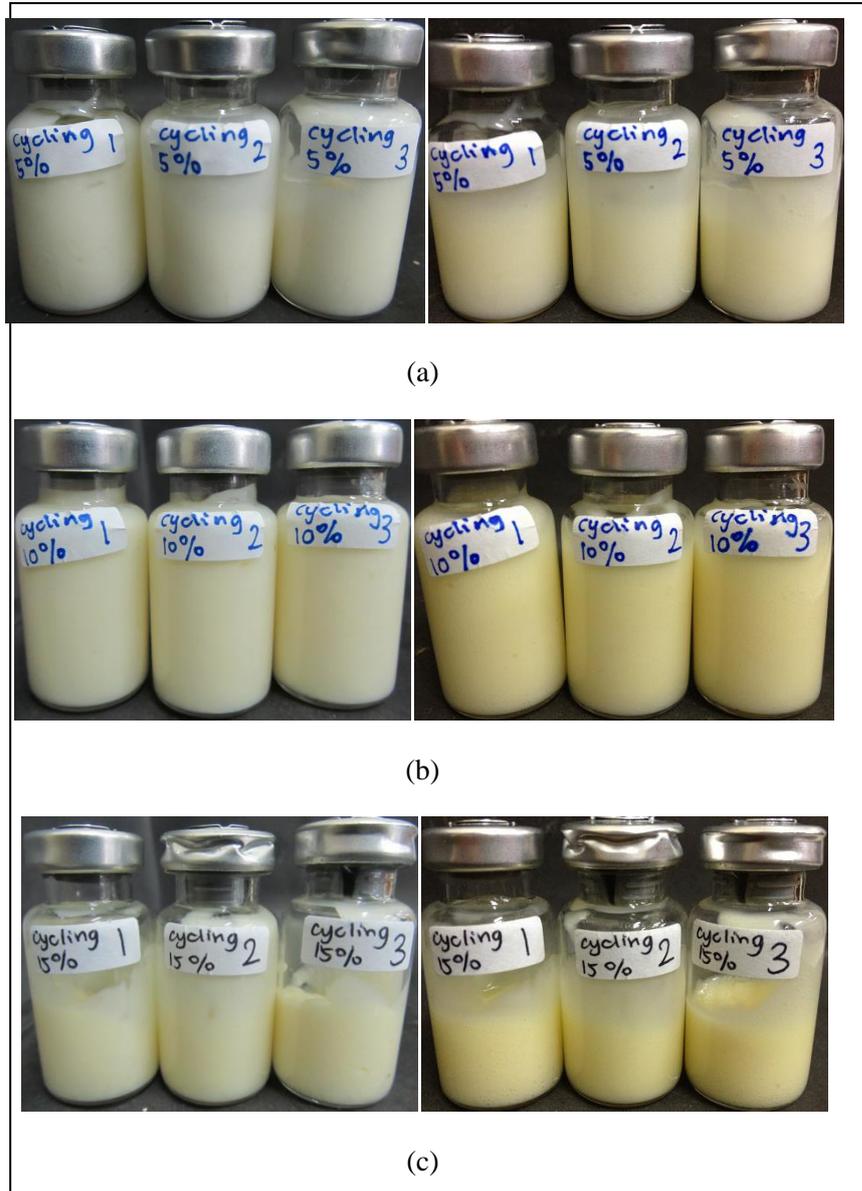
Lampiran 22. Uji stabilitas krim liposom 15% penyimpanan pada suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$); (a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6; (e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10; (g) minggu ke-12

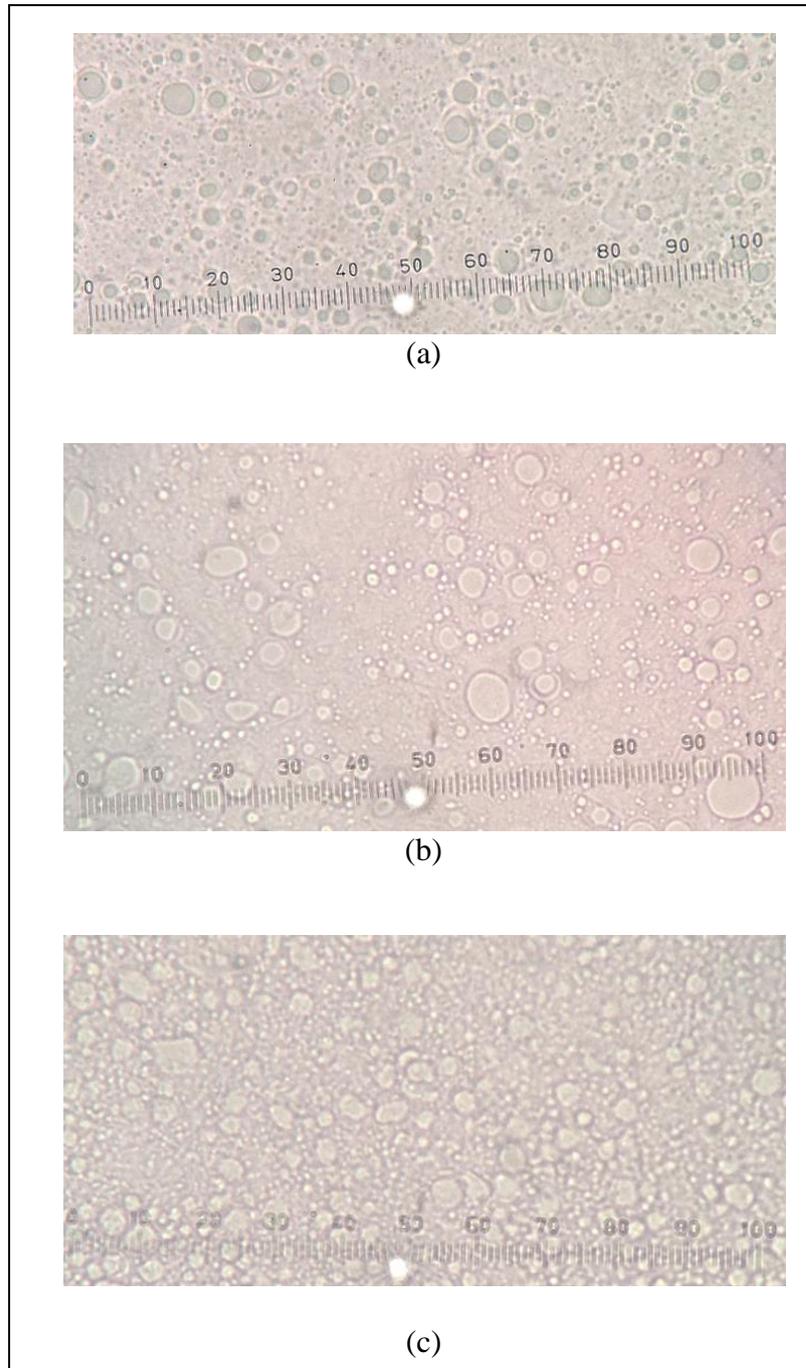


Lampiran 23. Uji stabilitas krim liposom 15% penyimpanan pada tinggi (40°C);
(a) minggu ke-0; (b) minggu ke-2; (c) minggu ke-4; (d) minggu ke-6;
(e) minggu ke-8; (f) minggu ke-10; (g) minggu ke-12



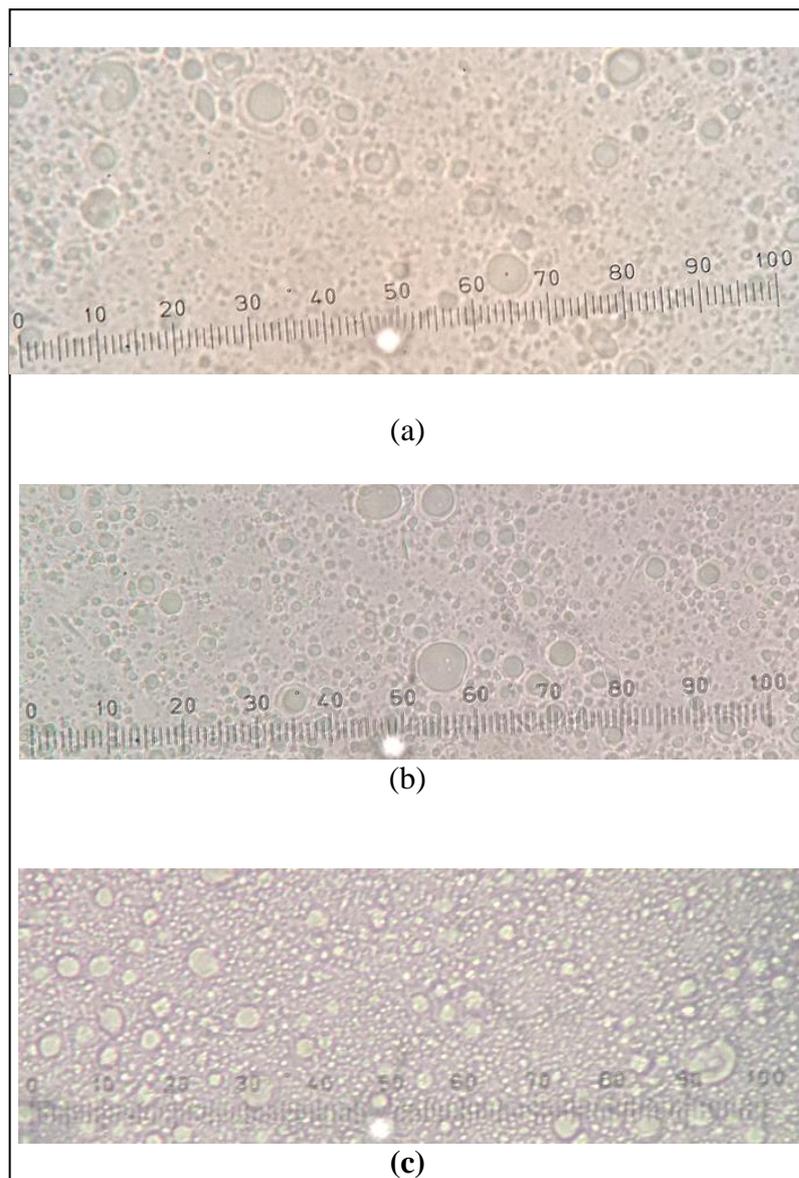
Lampiran 24. Penampilan krim liposom 5% (a), 10% (b), 15% (c) pada awal dan akhir *cycling test*.



Lampiran 25. Penampilan globul pada sediaan krim liposom

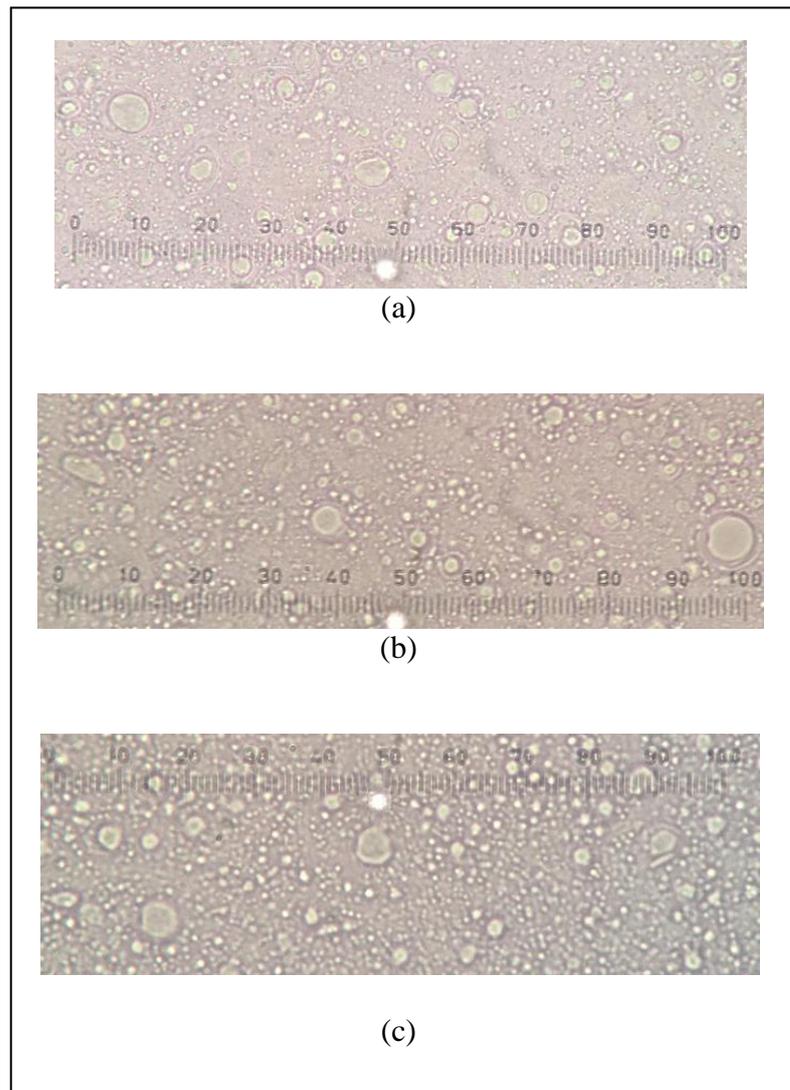
Penampilan globul krim liposom 5% pada minggu ke-0 (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, (c) suhu tinggi di tingkat perbesaran 400x

(lanjutan)



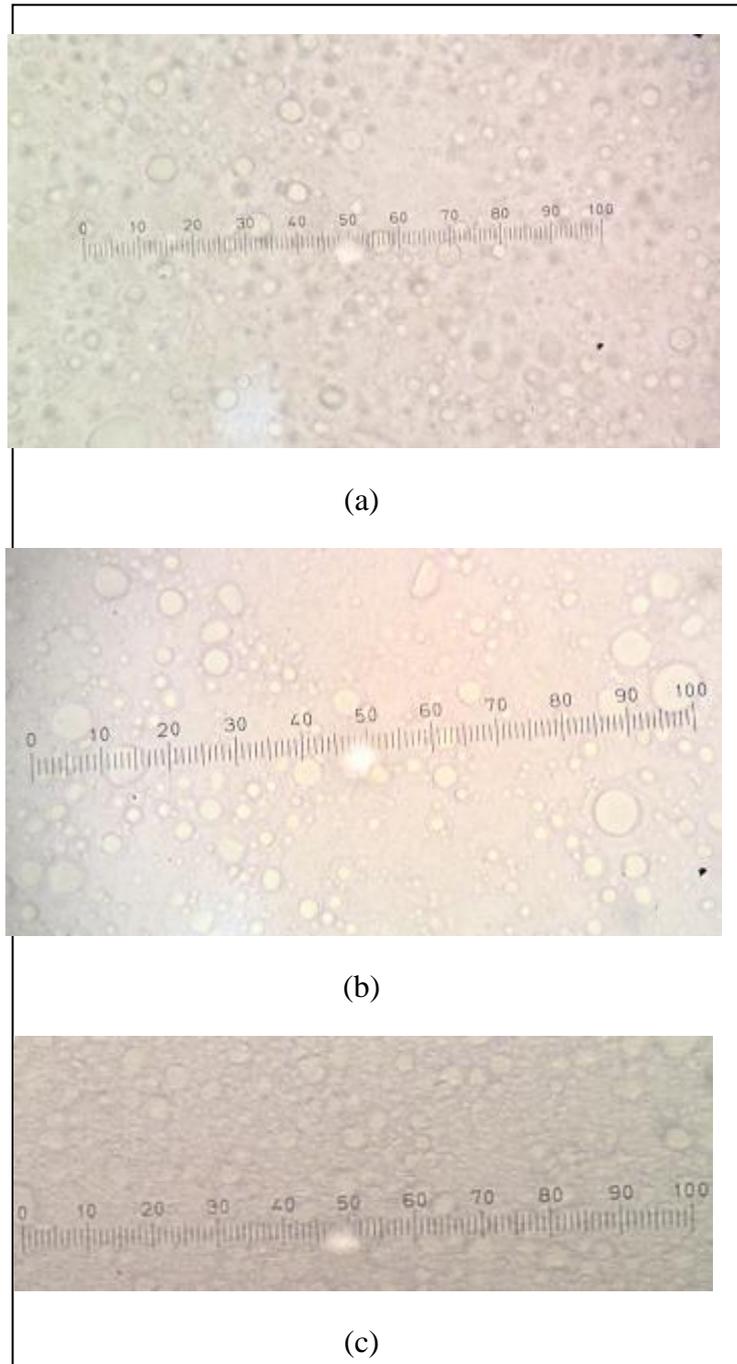
Penampilan globul krim liposom 10% pada minggu ke-0 (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, (c) suhu tinggi di tingkat perbesaran 400x

(lanjutan)



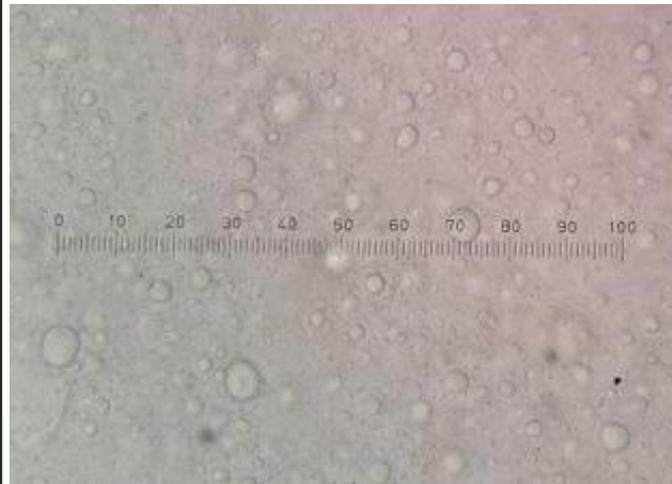
Penampilan globul krim liposom 15% pada minggu ke-0 (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, (c) suhu tinggi di tingkat perbesaran 400x

(lanjutan)

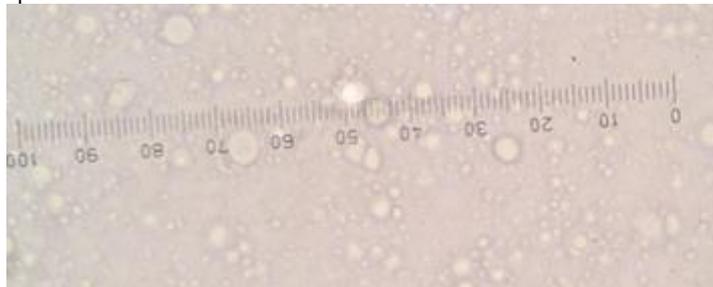


Penampilan globul krim liposom 5% pada minggu ke-12 (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, (c) suhu tinggi di tingkat perbesaran 400x

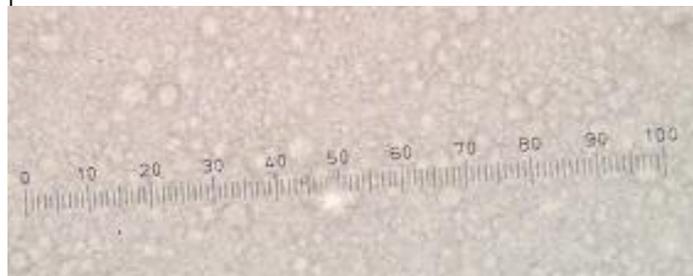
(lanjutan)



(a)



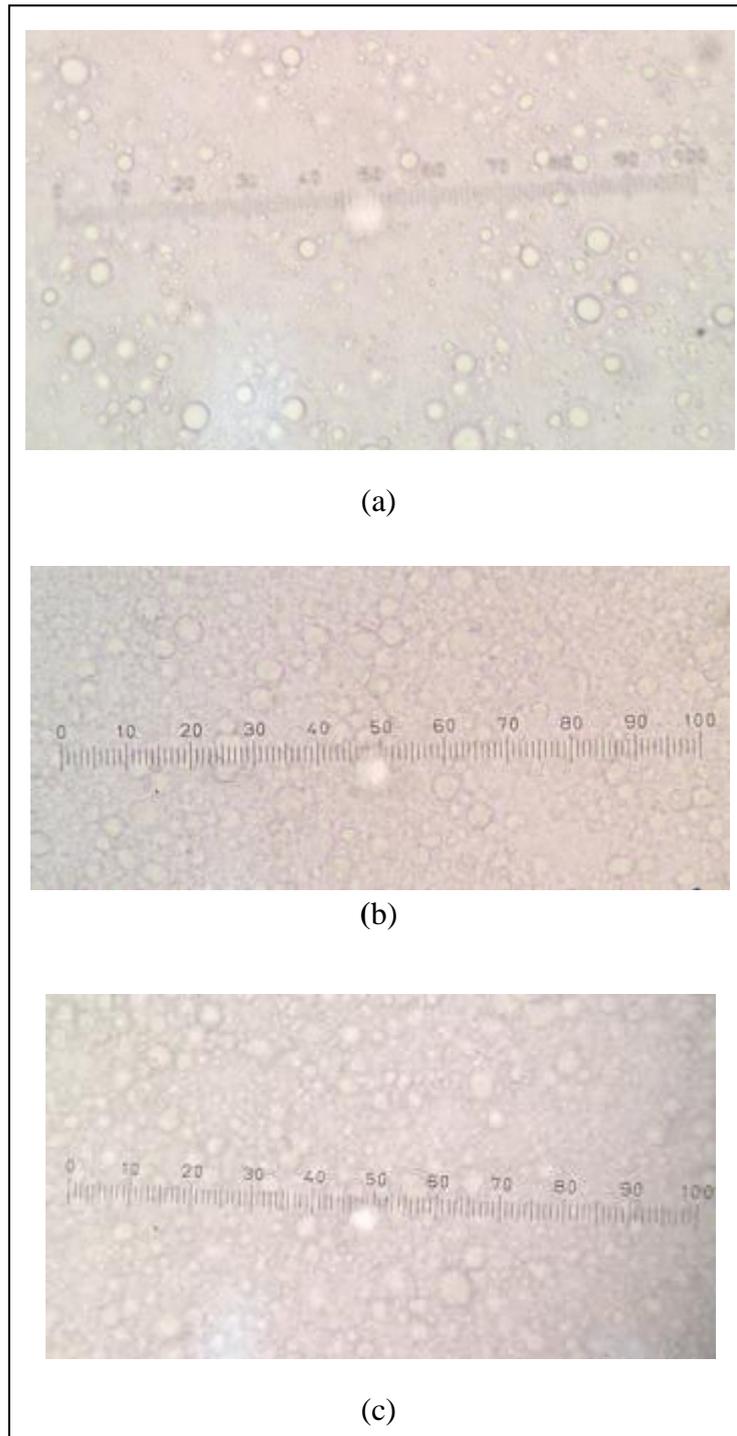
(b)



(c)

Penampilan globul krim liposom 10% pada minggu ke-12 (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, (c) suhu tinggi di tingkat perbesaran 400x

(lanjutan)



Penampilan globul krim liposom 15% pada minggu ke-12 (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, (c) suhu tinggi tingkat perbesaran 400x

Lampiran 26. Hasil analisis PSA sediaan krim (dalam μm)

Sediaan	Rata-rata	d_{10}	d_{50}	d_{90}
Krim Liposom 5%	$28,6 \pm 13,89$	8,548	29,92	46,16
Krim liposom 10%	$28,69 \pm 12,74$	11,55	28,34	46,1
Krim liposom 15%	$27,35 \pm 13,04$	9,957	27,33	45,40
Krim Fraksi (tanpa liposom)	$17,11 \pm 10,11$	4,78	15,75	31,92

Lampiran 27. Data kadar supernatan liposom

Liposom	Konsentrasi sampel (μg)	Luas puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi supernatan [x] (μg)	Kadar Supernatan (%)
1	403.72	7171.14	0,493	0,122
2	400.88	4876.84	0,296	0,073
3	401.2	3786.35	0,202	0,05

Lampiran 28. Data kadar total liposom

Liposom	Konsentrasi sampel (μg)	Luas puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi total [x] (μg)	Kadar Total (%)
1	402.96	13332.59	1,022	0,253
2	400.8	14931.91	1,159	0,289
3	402.4	11736.45	0,885	0,219

Lampiran 29. Data Efisiensi Penjerapan Liposom

Liposom	Kadar Total Liposom (%)	Kadar Supernatan Liposom (%)	Efisiensi Penjerapan Liposom (%)
1	0,253	0,122	51,735
2	0,289	0,073	74,433
3	0,219	0,05	77,085

Lampiran 30. Data Kadar α -Mangostin dalam Fraksi

Konsentrasi sampel (μg)	Luas puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi fraksi [x] (μg)	Kadar α -mangostin dalam fraksi (%)	Rata-rata Kadar α -mangostin dalam fraksi (%)
0,5186	6146,56	0,405247	78,14252	76,42 \pm 1,79
0,5160	5907,41	0,38473	74,56003	
0,5173	6038,04	0,395937	76,53912	

Lampiran 31. Hasil Pengamatan Organoleptis Krim Liposom 5%

Minggu ke-	Suhu Rendah ($\pm 4^\circ\text{C}$)		Suhu Kamar (29°C)		Suhu Tinggi ($\pm 40^\circ\text{C}$)	
	Warna	Bau	Warna	Bau	Warna	Bau
0	Putih	Tidak	Putih	Tidak	Putih	Tidak
	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau
2	Putih	Tidak	Putih	Tidak	Putih	Tidak
	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau
4	Putih	Tidak	Putih	Tidak	Putih	Tidak
	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau
8	Putih	Tidak	Putih	Tidak	Putih	Tidak
	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau
10	Putih	Tidak	Putih	Tidak	Putih	Tidak
	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau	kekuningan	berbau
12	Putih	Tidak	Putih	Tidak	Putih	Tidak
	Kuning	berbau	Kuning	berbau	Kuning	berbau

Lampiran 32. Hasil Pengamatan Organoleptis Krim Liposom 10%

Minggu Ke-	Suhu Rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$)		Suhu Kamar (29°C)		Suhu Tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$)	
	Warna	Bau	Warna	Bau	Warna	Bau
0	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau
2	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau
4	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau
8	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau
10	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau	Kuning muda	Tidak berbau
12	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau

Lampiran 33. Hasil Pengamatan Organoleptis Krim Liposom 15%

Minggu ke-	Suhu Rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$)		Suhu Kamar (29°C)		Suhu Tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$)	
	Warna	Bau	Warna	Bau	Warna	Bau
0	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau
2	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau
4	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau
8	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau
10	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau
12	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau	Kuning	Tidak berbau

Lampiran 34. Hasil Pengamatan pH Sediaan Krim Liposom 5%

	Suhu Dingin (4°C)				Suhu Kamar (29°C)				Suhu Tinggi (40°C)			
	A	B	C	Rata-rata	A	B	C	Rata-rata	A	B	C	Rata-rata
0	6,2	6,2	6,2	6,17 ± 0,02	6,2	6,2	6,2	6,17 ± 0,02	6,2	6,2	6,2	6,17 ± 0,02
2	6,1	6,2	6,2	6,15 ± 0,01	5,8	5,7	5,7	5,74 ± 0,07	6	6	6	5,98 ± 0,01
4	6,1	6,2	6,2	6,15 ± 0,03	5,9	5,8	5,9	5,89 ± 0,05	5,4	5,3	5,3	5,32 ± 0,03
6	6,6	6,2	6,4	6,39 ± 0,20	6,4	6,3	6,3	6,35 ± 0,06	6,1	6	6	6,03 ± 0,03
8	6,3	6,4	6,3	6,35 ± 0,01	6,5	6,4	6,4	6,41 ± 0,6	5,5	5,6	5,5	5,54 ± 0,05
10	6,3	6,3	6,3	6,32 ± 0,02	5,9	5,9	5,8	5,87 ± 0,07	5,3	5,3	5,4	5,31 ± 0,05
12	6,3	6,3	6,3	6,30 ± 0,02	5,9	5,9	5,8	5,87 ± 0,04	5,3	5,3	5,3	5,3 ± 0,02

Lampiran 35. Lampiran Hasil Pengamatan pH Sediaan Krim Liposom 10%

	Suhu Dingin (4°C)				Suhu Kamar (29°C)				Suhu Tinggi (40°C)			
	A	B	C	Rata-rata	A	B	C	Rata-rata	A	B	C	Rata-rata
0	6,2	6,2	6,2	6,25 ± 0,01	6,2	6,3	6,2	6,25 ± 0,01	6,25	6,25	6,24	6,25 ± 0,01
2	6,0	6,0	6,0	6,04 ± 0,01	5,7	5,6	5,6	5,67 ± 0,04	5,73	5,65	5,82	5,73 ± 0,09
4	6,2	6,2	6,2	6,22 ± 0,03	5,9	5,9	5,9	5,96 ± 0,03	5,39	5,4	5,45	5,41 ± 0,03
6	6,4	6,4	6,4	6,43 ± 0,05	6,4	6,5	6,5	6,51 ± 0,02	6,18	6,06	6,04	6,09 ± 0,08
8	6,3	6,3	6,4	6,37 ± 0,03	5,8	6,5	6,4	6,29 ± 0,36	5,49	5,79	5,51	5,6 ± 0,17
10	6,3	6,4	6,4	6,37 ± 0,02	5,9	5,8	5,8	5,89 ± 0,01	5,33	5,32	5,32	5,32 ± 0,01
12	6,3	6,3	6,4	6,35 ± 0,02	5,8	5,8	5,8	5,87 ± 0,01	5,31	5,3	5,29	5,3 ± 0,01

Lampiran 36. Hasil Pengamatan pH Sediaan Krim Liposom 15%

	Suhu Dingin (4°C)				Suhu Kamar (29°C)				Suhu Tinggi (40°C)			
	A	B	C	Rata-rata	A	B	C	Rata-rata	A	B	C	Rata-rata
0	6,2	6,2	6,2	6,18 ± 0,01	6,2	6,2	6,2	6,18 ± 0,02	6,2	6,1	6,2	6,18 ± 0,01
2	6,1	6,0	6,1	6,07 ± 0,02	5,9	5,9	5,9	5,94 ± 0,03	5,7	5,7	5,8	5,78 ± 0,04
4	6,2	6,1	6,1	6,2 ± 0,02	5,8	5,8	5,8	5,89 ± 0,01	5,4	5,5	5,4	5,45 ± 0,05
6	6,4	6,4	6,3	6,39 ± 0,05	6,3	6,3	6,2	6,32 ± 0,05	6,2	6,0	6,1	6,14 ± 0,13
8	6,3	6,3	6,3	6,34 ± 0,01	5,8	5,9	6,0	5,93 ± 0,1	5,5	5,4	5,4	5,48 ± 0,04
10	6,3	6,2	6,3	6,3 ± 0,01	5,8	5,8	5,8	5,85 ± 0,02	5,3	5,3	5,3	5,37 ± 0,01
12	6,3	6,2	6,2	6,28 ± 0,02	5,8	5,8	5,8	5,83 ± 0,02	5,3	5,3	5,3	5,35 ± 0,01

Lampiran 37. Viskositas krim blanko Minggu Ke-0 dengan spindle no.5

Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
1	18,5	8000	148000	132,9595	0,000898375
2	21,5	4000	86000	154,5205	0,00179675
5	28	1600	44800	201,236	0,004491875
10	35	800	28000	251,545	0,00898375
20	44	400	17600	316,228	0,0179675
20	41	400	16400	294,667	0,0179675
10	32	800	25600	229,984	0,00898375
5	24	1600	38400	172,488	0,004491875
2	22	4000	88000	158,114	0,00179675
1	13	8000	104000	93,431	0,000898375

Lampiran 38. Viskositas Krim Liposom 5% Minggu ke-0 dengan spindle no.5

Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
1	9	8000	72000	64,683	0,000898375
2	12	4000	48000	86,244	0,00179675
5	19,5	1600	31200	140,1465	0,004491875
10	24	800	19200	172,488	0,00898375
20	29	400	11600	208,423	0,0179675
20	27	400	10800	194,049	0,0179675
10	16	800	12800	114,992	0,00898375
5	11,5	1600	18400	82,6505	0,004491875
2	8	4000	32000	57,496	0,00179675
1	6	8000	48000	43,122	0,000898375

Lampiran 39. Viskositas Krim Liposom 10% Minggu ke-0 dengan spindel no.5

Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress F/A = $dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
1	6	8000	48000	43,122	0,000898375
2	8	4000	32000	57,496	0,00179675
5	12,5	1600	20000	89,8375	0,004491875
10	14,5	800	11600	104,2115	0,00898375
20	20	400	8000	143,74	0,0179675
20	20	400	8000	143,74	0,0179675
10	13	800	10400	93,431	0,00898375
5	8	1600	12800	57,496	0,004491875
2	5	4000	20000	35,935	0,00179675
1	4	8000	32000	28,748	0,000898375

Lampiran 40. Viskositas Krim Liposom 15% Minggu Ke-0 dengan spindel 5

Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress F/A = $dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
1	6,5	8000	52000	46,7155	0,000898375
2	5	4000	20000	35,935	0,00179675
5	8	1600	12800	57,496	0,004491875
10	14	800	11200	100,618	0,00898375
20	18	400	7200	129,366	0,0179675
20	17	400	6800	122,179	0,0179675
10	11,5	800	9200	82,6505	0,00898375
5	6	1600	9600	43,122	0,004491875
2	4	4000	16000	28,748	0,00179675
1	3,5	8000	28000	25,1545	0,000898375

Lampiran 41. Viskositas krim blanko Minggu ke-12 dengan spindel 5

Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
0,5	36,5	16000	584000	262	0,000449
1	42,5	8000	340000	305	0,000898
2	52	4000	208000	374	0,001797
2,5	54	3200	172800	388	0,002246
5	62	1600	99200	446	0,004492
10	72,5	800	58000	521	0,008984
20	80	400	32000	575	0,017968
20	79	400	31600	568	0,017968
10	65	800	52000	467	0,008984
5	52,5	1600	84000	377	0,004492
2,5	40	3200	128000	287	0,002246
2	35,5	4000	142000	255	0,001797
1	26,5	8000	212000	190	0,000898
0,5	19	16000	304000	137	0,000449

Lampiran 42. Viskositas krim Liposom 5% Minggu ke-12 dengan spindel 5

Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
0,5	5,5	16000	88000	40	0,000449
1	9,5	8000	76000	68	0,000898
2	14,5	4000	58000	104	0,001797
2,5	16,5	3200	52800	119	0,002246
5	25	1600	40000	180	0,004492
10	27	800	21600	194	0,008984
20	38	400	15200	273	0,017968
20	35	400	14000	252	0,017968
10	24	800	19200	172	0,008984
5	16,5	1600	26400	119	0,004492
2,5	12	3200	38400	86	0,002246
2	10	4000	40000	72	0,001797
1	7	8000	56000	50	0,000898
0,5	6	16000	96000	43	0,000449

Lampiran 43. Viskositas Krim Liposom 10% Minggu ke-12 dengan spindle no.5

Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
0,5	11	16000	176000	79	0,000449
1	14,5	8000	116000	104	0,000898
2	19	4000	76000	137	0,001797
2,5	20	3200	64000	144	0,002246
5	28	1600	44800	201	0,004492
10	32	800	25600	230	0,008984
20	33	400	13200	237	0,017968
20	29	400	11600	208	0,017968
10	19	800	15200	137	0,008984
5	14	1600	22400	101	0,004492
2,5	11,5	3200	36800	83	0,002246
2	9	4000	36000	65	0,001797
1	7	8000	56000	50	0,000898
0,5	7	16000	112000	50	0,000449

Lampiran 44. Viskositas Krim Liposom 15% Minggu Ke-12 dengan spindle 5

Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
0,5	8,5	16000	136000	61	0,000449
1	11	8000	88000	79	0,000898
2	15	4000	60000	108	0,001797
2,5	16	3200	51200	115	0,002246
5	21	1600	33600	151	0,004492
10	24	800	19200	172	0,008984
20	33	400	13200	237	0,017968
20	28	400	11200	201	0,017968
10	18	800	14400	129	0,008984
5	13	1600	20800	93	0,004492
2,5	10	3200	32000	72	0,002246
2	9	4000	36000	65	0,001797
1	6,5	8000	52000	47	0,000898
0,5	6	16000	96000	43	0,000449

Lampiran 45. Data Viskositas Krim pada minggu ke-0 dan minggu ke-12

Sediaan Krim	Minggu ke-0 (cps)	Minggu ke-12 (cps)
Blanko	17600	32000
Liposom 5%	11600	15200
Liposom 10%	8000	13200
Liposom 15%	7200	11200

Lampiran 46. Data Konsistensi Sediaan Krim pada suhu kamar ($29 \pm 2^\circ\text{C}$)

Sediaan Krim	Minggu ke-0 (1/10 mm)	Minggu ke-12 (1/10 mm)
Blanko	374	356
Liposom 5%	361	321
Liposom 10%	377	273
Liposom 15%	362	314

Keterangan:

Pengukuran dilakukan menggunakan spindel no.5 dengan kecepatan 20 rpm pada suhu kamar

Lampiran 47. Hasil *Cycling Test*

	Siklus ke-0			Siklus ke-6		
	1	2	3	1	2	3
KL 5%	Putih kekuningan homogen	Putih kekuningan homogen	Putih kekuningan homogen	Lebih kuning homogen	Lebih kuning homogen	Lebih kuning homogen
KL 10%	Kuning muda, homogen	Kuning muda, homogen	Kuning muda, homogen	Kuning homogen	Kuning homogen	Kuning homogen
KL 15%	Kuning, Homogen	Kuning, Homogen	Kuning, Homogen	Kuning tua Homogen	Kuning, tua Homogen	Kuning tua, Homogen

Lampiran 48. Diameter globul krim liposom 5% pada suhu rendah minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,122-0,206	0,164	12	10,1
0,207-0,292	0,249	20	4,98
0,293-0,377	0,335	219	73,365
0,378-0,462	0,420	14	5,88
0,463-0,548	0,505	33	16,665
0,549-0,633	0,591	9	5,319
0,634-0,718	0,676	7	4,732
0,719-0,803	0,762	34	25,908
0,804-0,825	0,847	8	6,776
0,826-0,976	0,932	6	5,592
Rata-rata : 0,417		$\Sigma n = 362$	$\Sigma n,d = 151,185$

Keterangan: panjang kelas: 10, diameter globul rata-rata: 0,42

Lampiran 49. Diameter globul krim liposom 10% pada suhu rendah minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,118-0,208	0,163	68	9,3
0,209-0,299	0,249	104	25,9
0,300-0,391	0,335	64	21,4
0,392-0,482	0,420	24	10,1
0,483-0,574	0,505	16	8,08
0,575-0,665	0,591	12	7,09
0,666-0,756	0,676	8	5,41
0,757-0,848	0,762	10	7,62
0,849-0,941	0,847	4	3,38
rata-rata : 0,322		$\Sigma n = 310$	$\Sigma n,d = 128,1$

Keterangan: panjang kelas: 9, diameter globul rata-rata: 0,322

Lampiran 50. Diameter globul krim liposom 15% pada suhu rendah minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,118-0,208	0,163	68	10,7
0,209-0,299	0,249	96	23,9
0,300-0,391	0,335	76	25,4
0,392-0,482	0,420	32	13,4
0,483-0,574	0,505	28	14,1
0,575-0,665	0,591	14	8,3
0,666-0,756	0,676	12	8,1
0,757-0,848	0,762	14	10,7
0,849-0,941	0,847	0	0
Rata-rata : 0,418		$\Sigma n = 334$	$\Sigma n,d = 139,65$

Keterangan: panjang kelas: 9, diameter globul rata-rata: 0,418

Lampiran 51. Diameter globul krim liposom 5% pada suhu kamar minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,118-0,208	0,163	6	32,2
0,209-0,299	0,249	72	17,9
0,300-0,391	0,335	36	12,1
0,392-0,482	0,420	88	36,9
0,483-0,574	0,505	128	64,64
0,575-0,665	0,591	48	28,36
0,666-0,756	0,676	0	0
0,757-0,848	0,762	8	10,7
0,849-0,941	0,847	0	0
Rata-rata : 0,454		$\Sigma n = 436$	$\Sigma n,d = 198,25$

Keterangan: panjang kelas: 9, diameter globul rata-rata: 0,454

Lampiran 52. Diameter globul krim liposom 10% pada suhu kamar minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,118-0,208	0,163	6	0,97
0,209-0,299	0,249	12	2,98
0,300-0,391	0,335	36	12,06
0,392-0,482	0,420	96	40,32
0,483-0,574	0,505	128	64,64
0,575-0,665	0,591	52	30,73
0,666-0,756	0,676	0	0
0,757-0,848	0,762	8	6,09
0,849-0,941	0,847	0	0
Rata-rata : 0,467		$\Sigma n = 338$	$\Sigma n,d = 157,8$

Keterangan: panjang kelas: 9, diameter globul rata-rata: 0,467

Lampiran 53. Diameter globul krim liposom 15% pada suhu kamar minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,118-0,208	0,163	0	0
0,209-0,299	0,249	8	1,9
0,300-0,391	0,335	36	12,1
0,392-0,482	0,420	64	26,8
0,483-0,574	0,505	136	68,68
0,575-0,665	0,591	48	28,37
0,666-0,756	0,676	4	2,4
0,757-0,848	0,762	8	6,9
0,849-0,941	0,847	0	0
Rata-rata : 0,482		$\Sigma n = 304$	$\Sigma n,d = 146,78$

Keterangan: panjang kelas: 9, diameter globul rata-rata: 0,482

Lampiran 54. Diameter globul krim liposom 5% pada suhu tinggi minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,118-0,208	0,163	68	39,1
0,209-0,299	0,249	104	25,8
0,300-0,391	0,335	76	25,4
0,392-0,482	0,420	32	13,4
0,483-0,574	0,505	28	14,1
0,575-0,665	0,591	14	8,3
0,666-0,756	0,676	12	8,1
0,757-0,848	0,762	14	10,7
0,849-0,941	0,847	4	3,38
Rata-rata : 0,421		$\Sigma n = 352$	$\Sigma n,d = 148,48$

Keterangan: panjang kelas: 9, diameter globul rata-rata: 0,421

Lampiran 55. Diameter globul krim liposom 10% pada suhu tinggi minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,118-0,208	0,575	0	0
0,209-0,299	0,249	16	25,8
0,300-0,391	0,335	76	25,4
0,392-0,482	0,420	32	13,4
0,483-0,574	0,505	68	14,1
0,575-0,665	0,591	128	8,3
0,666-0,756	0,676	36	8,1
0,757-0,848	0,762	0	10,7
0,849-0,941	0,847	8	3,38
Rata-rata : 0,505		$\Sigma n = 364$	$\Sigma n,d = 183,98$

Keterangan: panjang kelas: 9, diameter globul rata-rata: 0,505

Lampiran 56. Diameter globul KL15% pada suhu tinggi dan minggu ke-12

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,118-0,208	0,575	4	0,652
0,209-0,299	0,249	0	0,0
0,300-0,391	0,335	36	12,06
0,392-0,482	0,420	0	13,44
0,483-0,574	0,505	26	13,13
0,575-0,665	0,591	114	67,4
0,666-0,756	0,676	112	75,7
0,757-0,848	0,762	34	25,9
0,849-0,941	0,847	16	13,5
Rata-rata : 0,609		$\Sigma n = 342$	$\Sigma n,d = 208,38$

Keterangan: panjang kelas: 9, diameter globul rata-rata: 0,609

Lampiran 57. Data Uji Perolehan Kembali (UPK) α -Mangostin dalam Sediaan

Sediaan	Luas puncak [y]($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi yg terukur [x] (μg)	Konsentrasi sebenarnya (μg)	Kadar Perolehan Kembali (%)	Kadar Perolehan Kembali Rata-rata
Krim	8719,9	0,2135	0,19072	89,32	
Liposom	8252,9	0,2011	0,16913	84,08	89,34 \pm 5,26
5%	8157,6	0,1986	0,18792	94,61	
Krim	11978,8	0,2997	0,2746	91,62	
Liposom	10561,2	0,2622	0,2387	91,03	91,60 \pm 0,56
10%	11293,7	0,2815	0,2595	92,15	
Krim	13234,8	0,3329	0,31995	96,09	
Liposom	12875,7	0,3234	0,3118	96,41	96,04 \pm 0,38
15%	13198,3	0,3319	0,31753	95,64	
Krim	33475,7	0,8683	0,89587	103,16	
FRAKSI ~	31651	0,8201	0,8512	103,78	103,17 \pm 0,61
15%	32478,9	0,8420	0,8637	102,57	

Lampiran 58. Hasil uji penetrasi α -mangostin dalam larutan campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4 dari sediaan krim liposom 5%, 10%, 15% dan krim fraksi diklorometana selama 8 jam (standar deviasi, n = 3)

Waktu (menit)	Jumlah α -mangostin terpenetrasi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)			
	KL 5%	KL 10%	KL 15%	KF DCM
10	0,51 \pm 0,41	3,10 \pm 0,05	6,01 \pm 0,05	2,51 \pm 0,06
30	0,32 \pm 0,22	3,34 \pm 0,06	6,23 \pm 0,15	2,58 \pm 0,28
60	0,41 \pm 0,31	3,24 \pm 0,31	6,5 \pm 0,05	2,39 \pm 0,1
90	4,37 \pm 6,9	3,27 \pm 0,03	6,81 \pm 0,14	2,68 \pm 0,28
120	0,74 \pm 0,67	3,31 \pm 0,12	6,92 \pm 0,05	2,92 \pm 0,2
180	0,76 \pm 0,7	3,49 \pm 0,18	7,02 \pm 0,09	2,94 \pm 0,24
240	0,78 \pm 0,74	3,49 \pm 0,12	7,34 \pm 0,15	3,25 \pm 0,37
300	0,84 \pm 0,81	3,71 \pm 0,13	7,7 \pm 0,15	3,16 \pm 0,67
360	0,96 \pm 0,98	3,72 \pm 0,11	8,06 \pm 0,51	3,1 \pm 0,3
420	1,43 \pm 1,75	4,01 \pm 0,12	7,98 \pm 0,11	3,64 \pm 0,47
480	1,65 \pm 2,22	3,95 \pm 0,13	8,27 \pm 0,14	3,44 \pm 0,28

Keterangan:

KL = Krim Liposom

KF DCM = Krim Fraksi Diklorometana

Lampiran 59. Hasil perhitungan fluks α -mangostin tiap pengambilan dari sediaan krim liposom 5%, 10%, 15% dan krim fraksi diklorometana selama 8 jam (standar deviasi, n = 3)

Waktu (menit)	Fluks α -mangostin ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ jam}$)			
	KL 5%	KL 10%	KL 15%	KF DCM
10	1,99 \pm 1,61	12,22 \pm 0,19	23,72 \pm 0,18	9,89 \pm 0,23
30	0,42 \pm 0,3	4,39 \pm 0,79	8,19 \pm 0,2	3,42 \pm 0,35
60	0,27 \pm 0,2	2,13 \pm 0,2	4,28 \pm 0,03	1,58 \pm 0,06
90	1,92 \pm 3,03	1,43 \pm 0,01	2,98 \pm 0,06	1,17 \pm 0,12
120	0,24 \pm 0,22	1,09 \pm 0,04	2,28 \pm 0,02	0,96 \pm 0,07
180	0,17 \pm 0,15	0,76 \pm 0,04	1,54 \pm 0,02	0,65 \pm 0,04
240	0,13 \pm 0,12	0,57 \pm 0,02	1,21 \pm 0,02	0,53 \pm 0,06
300	0,11 \pm 0,11	0,49 \pm 0,02	1,01 \pm 0,02	0,42 \pm 0,09
360	0,11 \pm 0,11	0,41 \pm 0,01	0,88 \pm 0,06	0,34 \pm 0,03
420	0,13 \pm 0,16	0,38 \pm 0,01	0,75 \pm 0,01	0,36 \pm 0,02
480	0,14 \pm 0,18	0,32 \pm 0,01	0,68 \pm 0,01	0,29 \pm 0,02

Keterangan:

KL = Krim Liposom

KF DCM = Krim Fraksi Diklorometana

Lampiran 60. Jumlah kumulatif α -Mangostin yang terpenetrasi, presentase jumlah α -

krim Mangostin yang terpenetrasi, dan fluks α -Mangostin dari sediaan krim liposom 5%, 10%, 15% selama 8 jam (standar deviasi, n = 3)

Sediaan	Jumlah kumulatif α -mangostin yang terpenetrasi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	% Jumlah kumulatif α -Mangostin yang terpenetrasi	Fluks ($\mu\text{g}/\text{cm}^2, \text{jam}$)
KL 5%	1,65 \pm 2,22	1,43 \pm 1,92	0,058 \pm 0,07
KL 10%	3,95 \pm 0,13	1,72 \pm 0,06	0,088 \pm 0,04
KL 15%	8,27 \pm 0,14	2,40 \pm 0,04	0,3493 \pm 0,25
KF DCM	3,44 \pm 0,27	0,24 \pm 0,02	0,2209 \pm 0,046

Keterangan:

KL : Krim liposom

KF DCM : Krim fraksi diklorometana tanpa liposom

Lampiran 61. Data kurva kalibrasi standar α -Mangostin pada $\lambda = 391$ nm untuk analisis kuantitatif hasil uji penetrasi dari sediaan krim 5% secara KLT

densitometri

Konsentrasi Standar [x] (μg)	Luas Puncak [y] ($\mu\text{V}/\text{s}$)	\hat{y}	$(\hat{y}-y)^2$
0,01235	282,4	0,0105	79743,83
0,0247	720,7	0,023676	519374,36
0,1976	6493,4	0,197213	42161682,43
0,2964	10184,8	0,308182	103723873,58
0,3952	12796	0,386679	163727720,25
$\Sigma x = 0,92625$		$\Sigma (\hat{y}-y)^2 =$	310212394,46

Keterangan:

Persamaan regresi linear: $y = 33265x - 66,889$ $r = 0,9990$

\hat{Y} : diperoleh dari plot konsentrasi terhadap persamaan kurva kalibrasi

Lampiran 62. Data kurva kalibrasi standar α -Mangostin pada $\lambda = 391$ nm untuk analisis kuantitatif hasil uji penetrasi dari sediaan krim 10% secara KLT densitometri

Konsentrasi Standar [x] (μg)	Luas Puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	\hat{y}	$(\hat{y}-y)^2$
0,022	583,3	583,3425	0,0018
0,088	2515,1	2515,143	0,0018
0,176	5511,1	5511,143	0,0018
0,264	11481,2	11481,24	0,0018
0,352	15971,3	15971,34	0,0018
$\Sigma x = 0,902$			$\Sigma (\hat{y}-y)^2 = 0,009$

Keterangan:

Persamaan regresi linear: $y = 47821x - 1414,5$ $r = 0,9890$

\hat{Y} : diperoleh dari plot konsentrasi terhadap persamaan kurva kalibrasi

Lampiran 63. Data kurva kalibrasi standar α -Mangostin pada $\lambda = 391$ nm untuk analisis kuantitatif hasil uji penetrasi dari sediaan krim 15% dan krim fraksi diklorometana secara KLT densitometri

Konsentrasi Standar [x] (μg)	Luas Puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	\hat{y}	$(\hat{y}-y)^2$
0,088	1778,7	1778,74	79743,83
0,176	4450,9	0,13581	519374,36
0,264	8012,6	0,24288	42161682,43
0,352	9708	0,29385	103723873,58
0,44	12394,4	0,37461	163727720,25
$\Sigma x = 1,32$		$\Sigma (\hat{y}-y)^2 =$	331858592,6

Keterangan:

Persamaan regresi linear: $y = 30101x - 677,63$ $r = 0,9951$

\hat{Y} : diperoleh dari plot konsentrasi terhadap persamaan kurva kalibrasi

Lampiran 64. Cara Perhitungan Rendemen

Bobot serbuk simplisia kulit buah manggis yang diekstraksi = 1030 g

Bobot ekstrak yang diperoleh setelah penguapan = 184,877 g

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100 \% = \frac{1030}{184,877} \times 100 \% = 17,94 \%$$

Lampiran 65. Contoh Perhitungan Efisiensi Penjerapan Liposom (data liposom 3)

$$\begin{aligned} \text{Penjerapan bahan uji (\%)} &= \frac{\text{Konsentrasi Total} - \text{Konsentrasi Supernatan}}{\text{Konsentrasi Total}} \times 100\% \\ &= \frac{0,219 - 0,050}{0,219} \times 100\% = 77,085 \% \end{aligned}$$

Penjerapan liposom percobaan ke-3 ialah = 77,085 %

Lampiran 66. Contoh Perhitungan *yield value* dari pengukuran konsistensi krim blanko pada minggu ke-0

Yield value dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $S_0 = \frac{k_1 m g}{p^n}$

So = *Yield value* (dyne/cm²)
 m = Massa kerucut
 g = Gravitasi
 p = Kedalaman penetrasi
 n = konstanta, yaitu 2
 $k_1 = \frac{1}{\mu} \cos^2 \alpha \cos \alpha = 0,14281$

Kedalaman penetrasi = 374 1/10 mm

Massa kerucut = 263,5 gram

$$\text{Yield value} = \frac{0,14281 \times 263,5 \times 981}{(3,74)^2} = 2639,16 \text{ dyne/cm}^2$$

Lampiran 67. Contoh perhitungan jumlah α -Mangostin yang terpenetrasi dari sediaan krim 5% pada menit ke-10 untuk percobaan pertama

$$\text{Serapan (y)} = 314,1$$

$$y = 32694x + 133,36$$

$$x = 0,005528$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor Pengenceran (FP)} &= \text{Volume labu tentukur} : \text{Volume sampling} \\ &= 5 \text{ mL} : 0,5 \text{ mL} = 10x \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi terpenetrasi} &= \chi \times \text{FP} \\ &= 0,005528 \times 10 \\ &= 0,05528 \text{ } \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi:

$$Q = \frac{\{C_n, V + \sum_{i=1}^{n-1} C, S\}}{A}$$

$$C_n = \text{Konsentrasi } \alpha\text{-Mangostin (} \mu\text{g/ml) pada sampling menit ke-10} = 0,05528 \text{ (} \mu\text{g/ml)}$$

$$V = \text{Volume sel difusi Franz}$$

$$\sum_{i=1}^{n-1} C = \text{bernilai 0 untuk sampling pertama (menit ke-10)}$$

$$S = \text{Volume sampling} = 0,5 \text{ ml}$$

$$A = \text{Luas area membran} = 1,77 \text{ cm}^2$$

$$Q = \frac{(0,055 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 14 \text{ ml}) + (0 \times 0,5 \text{ ml})}{1,52 \text{ cm}^2} = 0,465 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$$

Jadi, jumlah α -Mangostin yang terpenetrasi dari sediaan krim 5% pada menit ke-10 ialah $0,465 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$

Lampiran 68. Contoh perhitungan jumlah α -Mangostin yang terpenetrasi dari sediaan krim

5% pada menit ke-30 untuk percobaan pertama

Serapan (y) = 314,1

$y = 32694x + 133,36$

$x = 0,005528$

Faktor Pengenceran (FP) = Volume labu tentukur : Volume sampling
 = 5 mL : 0,5 mL = 10x

Konsentrasi terpenetrasi = χ x FP
 = 0,003292 x 10
 = 0,03292 $\mu\text{g/ml}$

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi:

$$Q = \frac{\{C_n, V + \sum_{i=1}^{n-1} C, S\}}{A}$$

C_n = Konsentrasi α -Mangostin ($\mu\text{g/ml}$) pada sampling menit ke-30 = 0,03292 ($\mu\text{g/ml}$)

V = Volume sel difusi Franz

$\sum_{i=1}^{n-1} C$ = bernilai 0 untuk sampling pertama (menit ke-10)

S = Volume sampling = 0,5 ml

A = Luas area membran = 1,52 cm^2

$$Q = \frac{(0,034 \mu\text{g/ml} \times 14 \text{ ml}) + (0,055 \times 0,5 \text{ ml})}{1,52 \text{ cm}^2} = 0,295 \mu\text{g/cm}^2$$

Jadi, jumlah α -Mangostin yang terpenetrasi dari sediaan krim 5% pada menit ke-30 ialah 0,295 $\mu\text{g/cm}^2$

Lampiran 69. Contoh perhitungan fluks alfa mangostin dari sediaan krim liposom 10%

Kecepatan penetrasi alfa mangostin (fluks; J , $\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$) dihitung dengan rumus:

$$J = \frac{M}{S.t}$$

Keterangan:

J = Fluks ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$)

M = Jumlah kumulatif Alfa Mangostin yang melalui membran (μg)

S = Luas area difusi (cm^2)

T = Waktu (jam)

$$J = \frac{M}{S.t} \leftrightarrow J.t = \frac{M}{S} = Q \leftrightarrow \frac{M}{S} = J.t$$

Bila dilihat dari grafik jumlah alfa mangostin terpenetrasi terhadap waktu, sumbu x adalah waktu (t) dan sumbu y adalah jumlah terpenetrasi (Q), Dari grafik tersebut ditarik garis regresi linier dan diperoleh persamaan: $y = bx + a$

Dari persamaan di atas, dapat dimisalkan yaitu:

$$y = \frac{M}{S} = \text{Jumlah obat terpenetrasi } (\mu\text{g}/\text{cm}^2) \text{ dan } x = t = \text{waktu (jam)}$$

maka nilai b adalah J atau fluks ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$)

Oleh karena itu, untuk sediaan krim untuk masing-masing percobaan adalah

1. $y = 0,096x + 3,2924 \rightarrow J_1 = 0,096 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$
2. $y = 0,1245x + 2,9953 \rightarrow J_2 = 0,1245 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$
3. $y = 0,0426x + 3,3627 \rightarrow J_3 = 0,0426 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$

$$J \text{ rata-rata} = 0,087 \pm 0,04 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

Jadi, fluks alfa mangostin dari sediaan krim liposom 10% adalah $0,087 \pm 0,04 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$.

Lampiran 70. Contoh perhitungan presentase jumlah kumulatif α -Mangostin yang terpenetrasi dalam sediaan krim 10%

$$\% \text{ Jumlah Alfa mangostin terpenetrasi} = \frac{\Sigma \text{ Kumulatif terpenetrasi} \times \text{Luas membran}}{\text{Massa alfa mangostin}} \times 100 \%$$

Jumlah liposom dalam 1 gram krim liposom 10% adalah 0,1 gram

Sampel yang diaplikasikan pada kulit sebanyak 1 gram

1 gram krim liposom 10 % mengandung alfa mangostin sebanyak 348,78 μg

Data 1

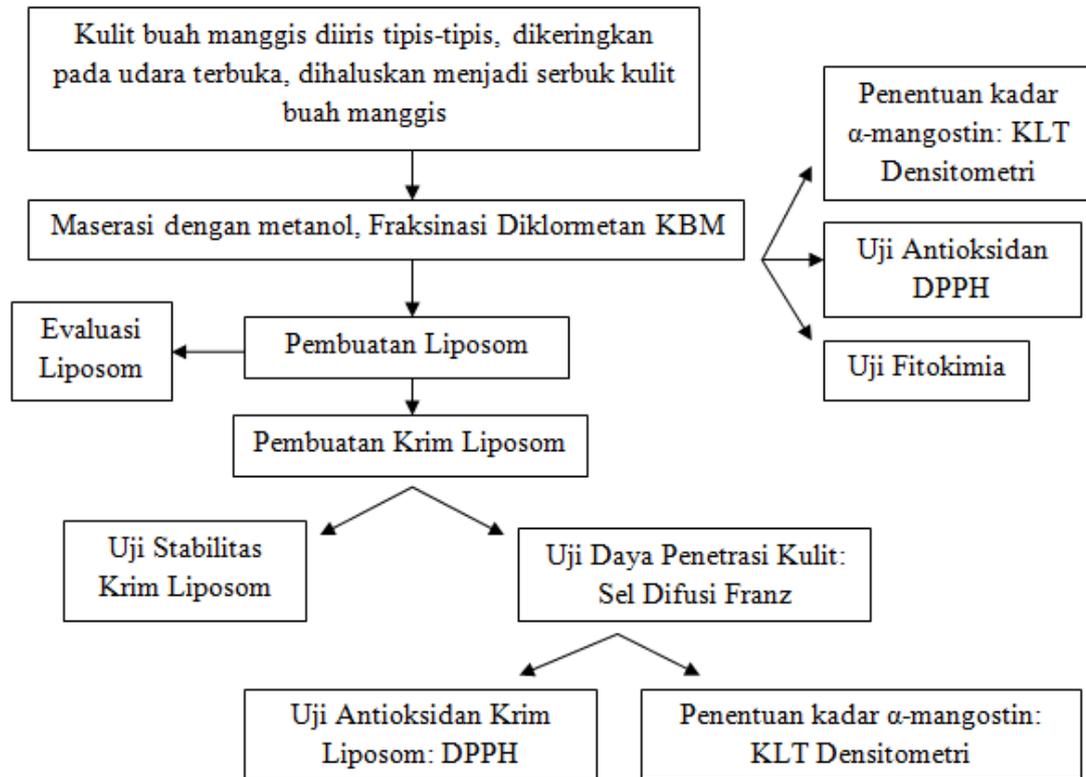
$$\% \text{ Jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{4,09 \times 1,52 \text{ cm}^2}{348,78 \mu\text{g}} \times 100\% = 1,78 \%$$

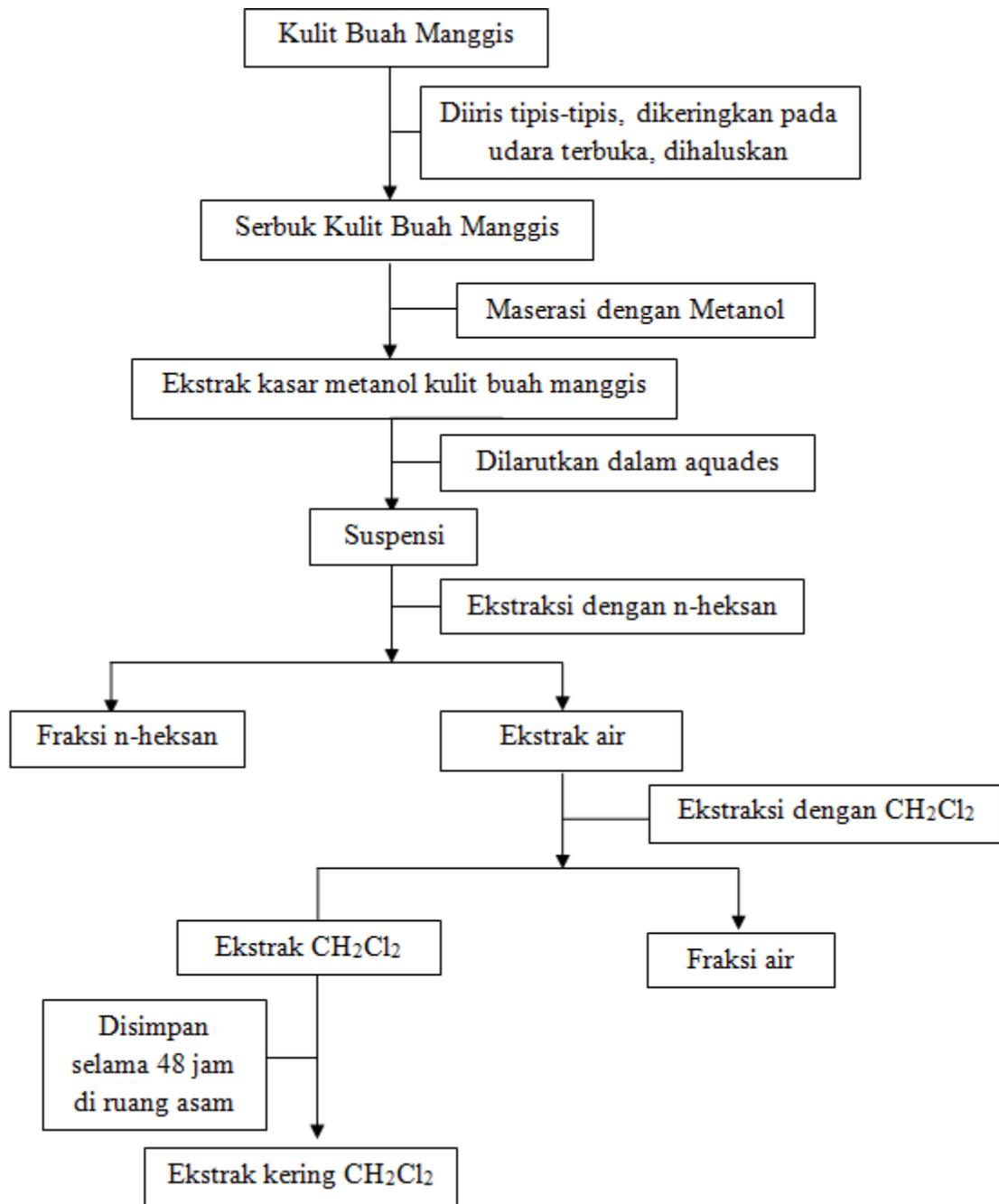
Data 2

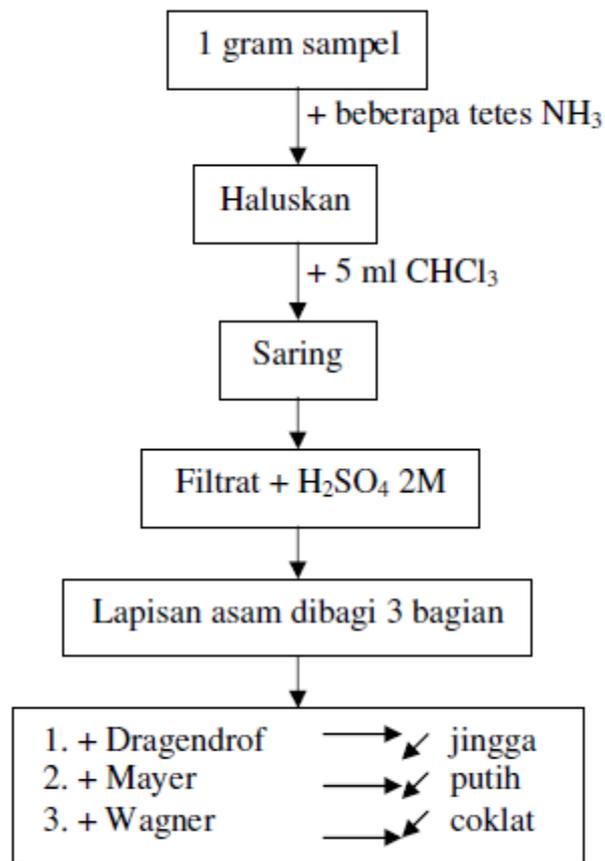
$$\% \text{ Jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{3,9 \times 1,52 \text{ cm}^2}{348,78 \mu\text{g}} \times 100\% = 1,71 \%$$

Data 3

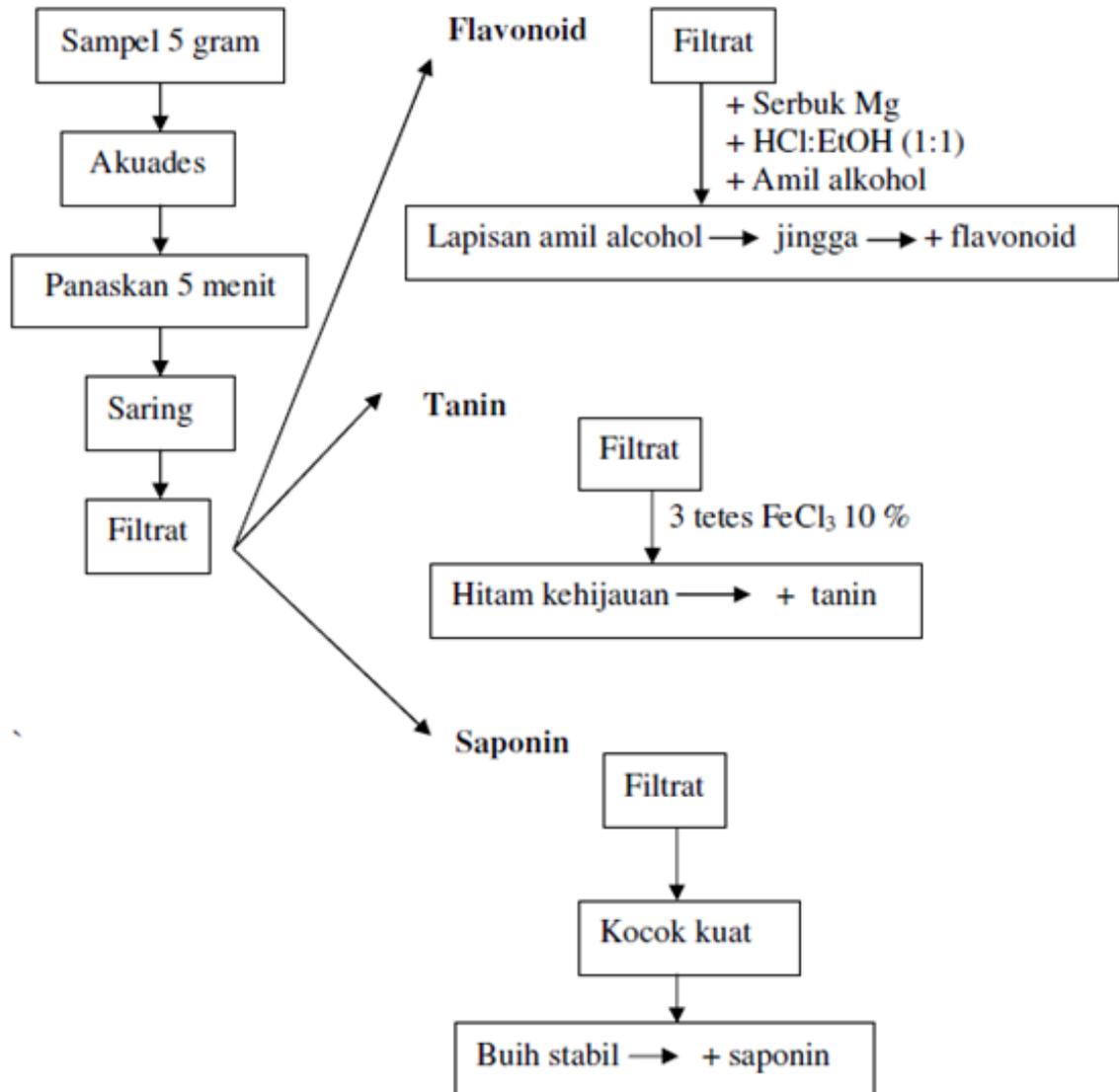
$$\% \text{ Jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{3,83 \times 1,52 \text{ cm}^2}{348,78 \mu\text{g}} \times 100\% = 1,67 \%$$

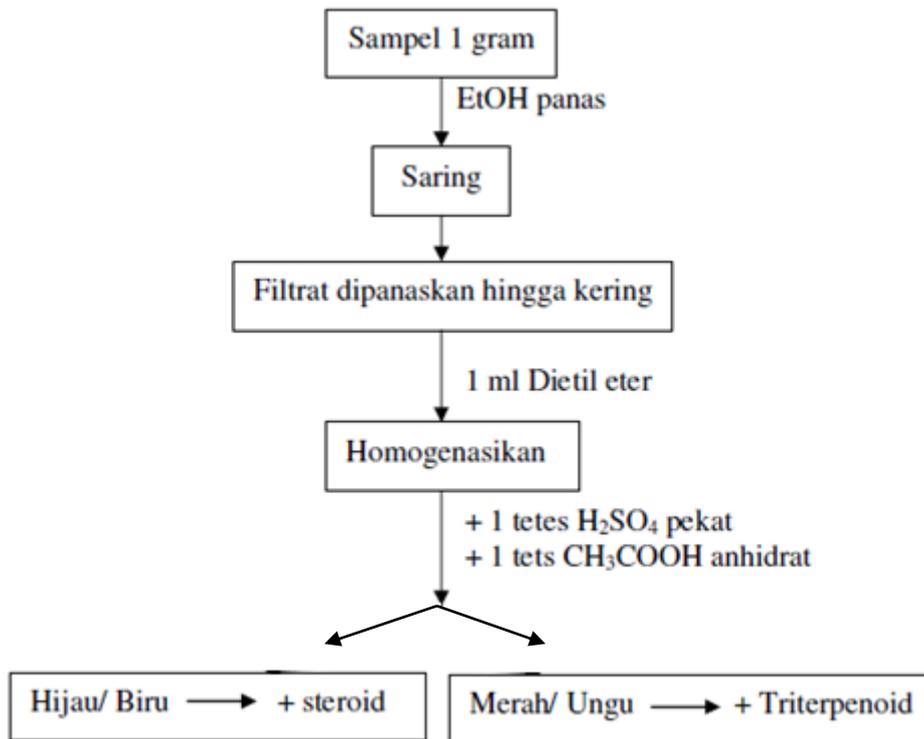
Lampiran 71. Skema penelitian secara umum

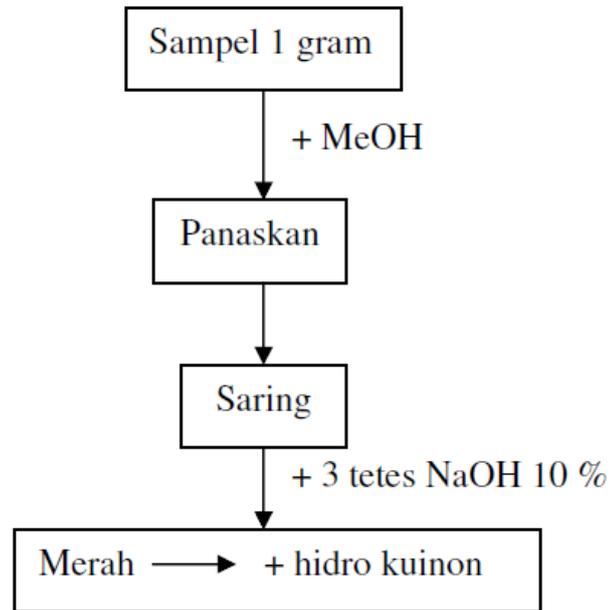
Lampiran 72. Skema cara kerja ekstraksi**Lampiran 73.** Skema analisis Fitokimia senyawa Alkaloid



(Untuk standar digunakan daun tapak dara)

Lampiran 74. Skema analisis Fitokimia senyawa fenolik

Lampiran 75. Skema analisis Fitokimia senyawa Steroid/Flavonoid

Lampiran 76. Skema analisis Fitokimia senyawa Hidrokuinon

Lampiran 77. Surat Determinasi Simplisia Kulit Buah Manggis dari LIPI Cibinong

	<p align="center">LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (Indonesian Institute of Sciences) PUSAT PENELITIAN BIOLOGI (Research Center for Biology)</p>		
	<p align="center">Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612</p>		
			Cibinong, 31 Juli 2012
Nomor	:1147 /IPH.1.02/If.8/VII/2012		
Lampiran	: -		
Perihal	: <u>Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan</u>		
<p>Kepada Yth. Bpk./Ibu/Sdr(i). Desy Muliana Wenas NPM : 1006787174 Mhs. Univ. Indonesia Fakultas Farmasi Kampus UI Depok, 16424</p>			
<p>Dengan hormat,</p> <p>Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :</p>			
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Manggis	<i>Garcinia x mangostana</i> L.	Clusiaceae
<p>Demikian, semoga berguna bagi Saudara.</p>			
<p align="right">  Kepala Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Dr. Joeni Setijo Rahajoe NIP. 196706241993032004 </p>			
<p><i>D:\Ident 2012\Desy Muliana Wenas.doc\Yayah-Dg</i></p>			<p><i>Page 1 of 1</i></p>

Lampiran 78. Hasil uji fitokimia, kadar air dan aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH



LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA

LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151

Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;

website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com

LAPORAN HASIL UJI

No. (sertifikat) 405.040/LPSB IPB/IV/13

No Order : 050/IV
 Jenis analisis : Fitokimia, Kadar Air
 Tanggal Terima : 19 April 2013
 Tanggal pengujian : 25 April 2013

Nama Sampel	Identitas & keadaan sampel	Parameter	Hasil	Satuan	Teknik Analisis	
Fraksi diklorometan kulit buah manggis	Serbuk - Padatan	Fitokimia:				
		Alkaloid	Wagner	positif	-	Visualisasi Warna
			Mayer	positif	-	
			Dragendorf	negatif	-	
		Steroid	negatif	-		
		Flavonoid	positif	-		
		Tanin	positif	-		
		Saponin	positif	-		
		Triterpenoid	positif	-		
		Hidroquinon	positif	-		
Kadar Air	1.85	%	Gravimetri			
IC ₅₀ (Antioksidan – DPPH)	37.53	ppm	Spektrofotometri			
Keterangan:						

Hasil pengukuran /pengujian hanya berhubungan dengan barang yang diuji
 Dilarang memperbanyak Laporan hasil uji tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, LPPM IPB

LPSB IPB-IV.25.2

Lampiran 79. Hasil Uji Antioksidan IC50 dan AEAC

 **LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA**
LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR
Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151
Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;
website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com

LAPORAN HASIL UJI

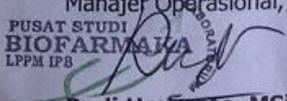
No. (sertifikat) 405.042/LPSB IPB/IV/13

No Order : 050/IV
 Nama / Instansi : **Desy Muliana W/Fakultas Farmasi Universitas Indonesia**
 Alamat : Perum Pesona Khayangan DM 1 Depok 16411
 Jenis analisis : Antioksidan – DPPH (IC₅₀ dan AEAC)
 Tanggal Terima : 24 April 2013
 Tanggal pengujian : 25 April 2013

Nama Sampel	Identitas & keadaan sampel	Parameter	Hasil	Satuan	Teknik Analisis
SDF Krim 5%	Cairan	Antioksidan (AEAC)	246.322	ppm	Spektrofotometri
SDF Krim 10%			187.861	ppm	
SDF Krim 15%			226.322	ppm	
SDF Krim Fraksi 15%			216.322	ppm	
Krim Liposom 5%	Krim	IC ₅₀ (Antioksidan – DPPH)	>40000	ppm	
Krim Liposom 10%			>40000	ppm	
Krim Liposom 15%			>40000	ppm	
Krim Fraksi 15%			6502.481	ppm	
Vitamin C	Padatan	IC ₅₀ (Antioksidan – DPPH)	5.045	ppm	

Keterangan:

Bogor, 21 Mei 2013
 Manajer Operasional, *


Rudi Heriyanto, MSi
 NIP. 19760428 200501 1002

Hasil pengukuran / pengujian hanya berhubungan dengan barang yang diuji.
 Dilarang memperbanyak Laporan hasil uji tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, LPPM IPB

LPSB IPB-IV.25.2 1 dari 1

Lampiran 80. Keterangan Lolos Kaji Etik dari FK UI



**Komite Etik Penelitian Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo**

Health Research Ethics Committee
Faculty of Medicine Universitas Indonesia
Cipto Mangunkusumo Hospital

Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430. Telp. 021-3157008. E-mail: ec_fkui@yahoo.com



Nomor : 067 /H2.F1/ETIK/2013

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

“Uji Daya Penetrasi Krim Liposom Xanton Fraksi Diklorometan dari Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia Mengostana L) Sebagai Antioksidan”.

Peneliti Utama : Desy Muliana Wenas, S.Si
Principal Investigators

Nama Institusi : Fakultas Farmasi UI
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
and approved the above-mentioned protocol.



*Ethical approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan
**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Lampiran 81. Surat pernyataan jenis tikus percobaan

PUSAT PENGUJIAN OBAT DAN MAKANAN NASIONAL (PPOMN)		F81020
Bidang :		Terbitan/Tanggal : 1/30-12-2011
Laboratorium : Hewan Percobaan		Revisi/Tanggal : 0/-
		Halaman : 1 dari 1

FORM PENYERAHAN HEWAN PERCOBAAN

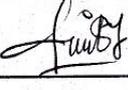
KEPADA PELANGGAN EKSTERNAL

No. 100 / LHP / 12 / 2012

- A. Identitas Pelanggan : Anita Yeyen / Magister Herbal 41.
 B. Tanggal Permintaan : 10 / 12 / 2012
 C. Tanggal Penyerahan : 10 / 12 / 2012
 D. Tujuan Penggunaan Hewan : Penelitian
 E. Spesifikasi Hewan yang Diserahkan :

JENIS HEWAN											
<input type="checkbox"/> MENCIT – <i>Mus musculus</i> Galur : deutch democratic Yokohama (ddY)				<input checked="" type="checkbox"/> TIKUS – <i>Rattus norvegicus</i> Galur : Sprague Dawley (SD)				<input type="checkbox"/> KELINCI – <i>Oryctolagus cuniculus</i> Galur : Japanese White (JW)			
BB	Umur (minggu)	♂	♀	BB	Umur (minggu)	♂	♀	BB	Umur (minggu)	♂	♀
		Σ	Σ			Σ	Σ			Σ	Σ
1				1	<u>15m</u>	-	<u>45</u>	1			
2				2				2			
3				3				3			
4				4				4			
5				5		-	<u>45</u>	5			
Total				Total				Total			

- F. Total Biaya : Rp. 1.350.000
(satu juta tiga ratus lima puluh ribu Rp)
- G. Status Pembayaran : Lunas
 Belum
- H. Bukti Pembayaran : Ada
 Tidak

Yang Menyerahkan, Tanggal : <u>10/12/2012</u> 	Yang Menerima, Tanggal : <u>10/12/2012</u> 	Mengeluangi, Tanggal : <u>10/12/2012</u>  Manajer Teknis
---	--	--

Lampiran 82. Sertifikat Analisis Alfa Mangostin

SIGMA-ALDRICH[®] sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
 Website: www.sigmaaldrich.com
 Email USA: techserv@sial.com
 Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:
ALPHA-MANGOSTIN

Product Number: M3824
Lot Number: 051M1495V
Brand: SIGMA
CAS Number: 6147-11-1
Formula: C₂₄H₂₆O₆
Formula Weight: 410.46 g/mol
Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
Quality Release Date: 15 JUN 2011

Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Faint Yellow to Yellow	Yellow
Appearance (Form)	Solid	Solid
Solubility (Color)	Colorless to Very Light Yellow	Faint Yellow
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
1 mg/mL, MeOH		
Proton NMR spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Purity (HPLC)	≥ 98 %	99 %



Rodney Burbach, Manager
Analytical Services
St. Louis, Missouri US

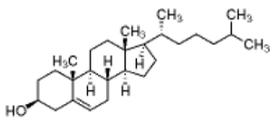
Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 1 Page 1 of 1

Lampiran 83. Sertifikat Analisis Fosfatidilkolin

SIGMA-ALDRICH®			
		Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs (SG), Switzerland Tel: +41 81 755 2511 Fax: +41 81 756 5449	
Certificate of Analysis			
Product Name:	L- α -PHOSPHATIDYLCHOLINE from egg yolk, ~ 60 % TLC		
Product Number:	61755		
Product Brand:	Sigma		
Molecular Formula:			
Molecular Mass:			
CAS Number:	8002-43-5		
TEST	SPECIFICATION	LOT BCBG3680V RESULTS	
APPEARANCE (COLOR)	YELLOW TO ORANGE	ORANGE	
APPEARANCE (FORM)	POWDER TO SOLIDIFIED MASS OR CHUNKS	SOLIDIFIED MASS OR CHUNKS	
PURITY (TLC AREA %)	≥ 55.0 %	93.4 %	
WATER	≤ 2.0 %	0.4 %	
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS	
QC RELEASE DATE	30/AUG/11		
 Dr. Claudia Geitner Manager Quality Control Buchs, Switzerland			
Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.			
Sigma-Aldrich	Certificate of Analysis - Product 61755 Lot BCBG3680V	Page 1 of 1	

Lampiran 84. Sertifikat Analisis Kolesterol

SIGMA-ALDRICH®		<small>sigma-aldrich.com</small>
		3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA Website: www.sigmaaldrich.com Email USA: techserv@sial.com Outside USA: eurtechserv@sial.com
Certificate of Analysis		
Product Name: Cholesterol Sigma Grade, ≥99%		
Product Number:	C8667	
Lot Number:	080M5304V	
Brand:	SIGMA	
CAS Number:	57-88-5	
MDL Number:	MFCD00003646	
Formula:	C ₂₇ H ₄₆ O	
Formula Weight:	386.65 g/mol	
Storage Temperature:	Store at -20 °C	
Quality Release Date:	11 NOV 2010	
Recommended Retest Date:	NOV 2020	
		
Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White to Off-White	White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Colorless to Very Faint Yellow	Colorless
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
100 mg/mL of CHCl ₃ (APHA NMT 20)		
Proton NMR spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Water (by Karl Fischer)	≤ 1.0%	0.0%
Purity (GC)	≥ 99%	99%
Carbon	83.0 - 84.7%	83.5%
Recommended Retest Period	-----	-----
10 years		
		
Rodney Burbach, Manager Analytical Services St. Louis, Missouri US		
Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.		
Version Number: 1	Page 1 of 1	

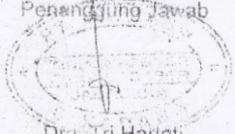
Lampiran 85. Sertifikat Analisis Propilen Glikol

		
HASIL PEMERIKSAAN		
Nama Bahan	: Propylene Glycol	
No Batch	: J 0063/12 (ZI 1201 S924)	
Ex	: Dow Chemical Co.	
E.D	: 09/2013	
Grade	: Farma	
Jenis Pemeriksaan	Persyaratan USP NF 19	Hasil
Pemerian	Cairan kental jernih, tidak berwarna, tidak berbau, rasa agak manis, higroskopik	Sesuai
Kelarutan	Dapat bercampur dgn air, dengan etanol dan dengan kloroform	Sesuai
Index Refraksi	1,431 - 1,433	1,433
Bobot per-ml	1,035 g - 1,037 g/ml	1,037 g/ml
pH		6,5
Keasambasaan	10 ml + 50 ml aquadest+ indikator bromotymol blue 3tts, titrasi dengan NaOH 0,1 N atau H ₂ SO ₄ 0,1 N, kurang dari 0,3 ml	0,05 ml NaOH
Kesimpulan : Memenuhi Syarat		
Pemeriksa		Cikarang, 14-01-2012 Penanggung Jawab
		
Tatang Suhartono Analisis		Dr. G. V. K. S. S. Apoteker SIK 3838/B
HEAD OFFICE	Jl. Cideng Barat No. 73, Jakarta Pusat 10150. Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax. : (021) 3522734, E-mail : info@brataco.com	
BRANCH OFFICE	<ul style="list-style-type: none"> • JAWARTA : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6260113 (rambling 3 lines) Fax. (021) 6260114 • BANDUNG : Jl. Boulevard Raya Blok 7B2 No. 5, Jakarta 14240 Telp. (021) 4584.8662-94 Fax. (021) 453.8661 • BEKASI : Jl. Kelencong No. 8, Bandung Telp. (022) 6077129, 6 030807, 8030808 Fax. (022) 607.6571 • BOGOR : Jl. Tawosan Jakarta No. 77G, Bandung Telp. (022) 7161277, 7216926 - 308 Fax. (022) 71.1084 • SEMARANG : Jl. Patroengran Timur No. 4, Semarang Telp. (024) 841-2360, 8489277 Fax. (024) 841.8960 • YOGYA : Jl. Bhyeynglari No. 45, Yogyakarta Telp. (0274) 543349, 515380 Fax. (0274) 543349 • SURABAYA : Jl. Tidar No. 89, Surabaya Telp. (031) 5322887, 5325057 Fax. (031) 5310485 • MEDAN : Jl. Iskandar Muda No. 40B, Medan Telp. (061) 414.8272, 452-2150 Fax. (061) 452.5888 • DENPASAR : Jl. Galot Subroto Baral No. 330C Denpasar Telp. (0361) 7443873, 7801787 Fax. (0361) 7443873 	
SUB BRANCH OFFICE	TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SEPANG, BOGOR KULON	

Lampiran 86. Sertifikat Analisis Tween 80

		
HASIL PEMERIKSAAN		
Nama Bahan	: Tween 80	
Batch	: J 0817/11 (2193)	
Ex	: Kao	
Grade	: farma	
Jenis pemeriksaan	Persyaratan FI IV	Hasil
Pemerian	Cairan kental, jernih, berwarna kuning muda hingga coklat, berbau khas lemah	cairan, kuning muda, jernih, bau khas lemah
Kelarutan	Larut dalam air, dalam etanol 95%, dalam etil asetat P, tidak larut dalam minyak mineral	sesuai
Identifikasi	Menurut cara identifikasi pada F.I. ed.IV	sesuai
pH	6 - 8	7.0
Bobot Jenis	1,06 g/ml - 1,09 g/ml	1,076
Bilangan asam	Tidak lebih dari 2,2	0.84
Bilangan sabun	45-55	49.50
Kesimpulan : <i>Memenuhi syarat</i>		
Pemeriksa  Tatang Suhartono Analis		Cikarang, 24.08.2011 Peranung B. Jawa Barat  DR. C. RICHARD G. Apoteker SIK 3836/B
HEAD OFFICE : Jl. Cideng Barat No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax. : (021) 3522734, E-mail : brataco@brataco.com BRANCH OFFICE : <ul style="list-style-type: none"> • JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No.6, Jakarta 11180 Telp. (021) 6290119 (hunting 3 lines) Fax. (021) 6292430 • BANDUNG : Jl. Boulevard Raya Blok T82 No. 8, Jakarta 14240 Telp. (021) 4584092-04 Fax. (021) 4602615 • SEMARANG : Jl. Kalenteng No. 8, Bandung Telp. (022) 6077128, 6030808 Fax. (022) 6031878 • YOGYA : Jl. Terusan Jakarta No. 77G, Bandung Telp. (022) 7101277, 7810308-309 Fax. (022) 7210310 • SURABAYA : Jl. Brigen, Kataman No. 19 Telp. (024) 8415272, 8418999 Fax. (024) 8414980 • MEDAN : Jl. Sheyindhara No. 45, Yogyra Telp. (0274) 543349, 515390 Fax. (0274) 543349 • TANGERANG : Jl. Tidar No. 89, Surabaya Telp. (031) 6322887, 6325057 Fax. (031) 6310465 • BOGOR : Jl. Iskandar Minda No. 40 B, Medan Telp. (061) 4146272, 4623169 Fax. (061) 4525966 SUB BRANCH OFFICE : TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDOARJO, DENPASAR, PALEMBANG, MAKASSAR		
The Nationwide Chemicals and Ingredients Distributor		
FAX NO. : 02189324659		
FROM : PT. BRATACO		
11 Jan. 2012 9:32PM PT		

Lampiran 87. Sertifikat Analisis setil alkohol

HASIL PEMERIKSAAN		 PT. BRATACO	
Nama Bahan	: Cetyl Alkohol		
Batch	: J 0122/10 (G 69346748)		
Ex	: Cognis		
Grade	: farma		
E D	: 09-2011		
Jenis pemeriksaan	Syarat USP NF19	Hasil	
Peménan	Masa seperti lilin, berbentuk lempeng, granul atau flake, berwarna putih, tak berasa, bau lemah	sesuai	
Kelarutan	Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam etanol 96% dan dalam eter	sesuai	
Suhu lebur	46-52 °C	49.5	
Bilangan. Asam	≤ 2.0	1.5	
Bilangan sabun	≤ 0	0.22	
Kesimpulan : <i>Memenuhi syarat</i>			
Pemeriksa  Nuri Komarawati Analis		Cikarang, 25-01-2010 Penangjung Jawab  Dra. Tri Hartati Apoteker S.I.K. 3836/B	
<small> HEAD OFFICE : Cikarang No. 10, Jl. Garuda Putih 10150, Telp. (021) 8922333 (Pusat) Fax. (021) 8922334, E-mail: brataco@brataco.com BRANCH OFFICE : * KAMARAH : Jl. Mangrove No. 17, S. Jember 61190, Telp. (031) 8280415 (Dusun) Fax. (031) 8292410 * BANGKALAN : Jl. Raya No. 182, B. Bangkalan 69240, Telp. (031) 8588600-84 Fax. (031) 8533814 * BANGKUNING : Jl. B. Bangkuning 60331, Telp. (021) 6031128, 6039004 Fax. (021) 6031978 * BANGKUPATI : Jl. Terusan Jakarta No. 275, B. Bangkupati, Telp. (021) 741277, 7210308-303 Fax. (021) 7210310 * BANGSAL : Jl. Bagan, K. Klaten No. 12, Telp. (021) 8415272, 8415299 Fax. (021) 8414980 * BANGKUNING : Jl. B. Bangkuning No. 41, Yogyakarta 552349, 515290 Fax. (021) 543349 * BANGKUNING : Jl. Tugu No. 99, S. C. Bangkuning 60111, 8122607, 5038007 Fax. (031) 6310465 * BANGKUNING : Jl. G. G. Bangkuning No. 319, 72306, Medan Telp. (061) 4148277, 4231114 Fax. (061) 4525206 AND BRANCH OFFICE : TANGERANG, BOGOR, ENKAPANG, CIBIRUHI, TABIRUMALAYA, SOLO, PURWOREJO, PUSAT, MAJANG, KUDUS, DENPASAR, PULANGBANG, MAKASSAR The Worldwide Chemicals and Ingredients Distributor </small>			

Lampiran 88. Sertifikat analisis metil paraben

Upt. RANTING SOLO 7/6 2010
HASIL PEMERIKSAAN

PT. BRATACO

Nama Bahan : Methyl Paraben (Nipagin)
 No Batch : J 0096/10 (MP-103/08-09)
 Ex : India
 E.D : 10-2013
 Grade : farme

Jenis Pemeriksaan	Persyaratan F.I.V	Hasil Pemeriksaan
Pemerian	Serbuk atau hablur kecil, tidak berwarna, Putih, tidak berbau atau berbau khas lemah, mempunyai sedikit rasa terbakar	Sesuai
Kelarutan	Sukar larut dalam air, benzene; mudah larut dalam etanol dan eter	Sesuai
Identifikasi	Didihkan 10 mg dengan 10 ml air, dinginkan, tambahkan 0,05 ml larutan besi (III) klorida P; terjadi warna ungu kemerahan	Positif
Keasaman	Panaskan 750 mg dalam 15 ml air pada suhu 80° C selama 1 menit, dinginkan dan saring; pada 10 ml filtrat, tambahkan 0,2 ml NaOH 0,1 N dan 2 tetes noreah metil LP; larutan berwarna kuning	Sesuai
Titik Lebur	125° C - 128° C	127° C
Kadar	99,0% - 100,5%	99,6%

Kesimpulan : Memenuhi Syarat

Pemeriksa :

 Rian Pratama Akbar
 Analis

Cikarang 25 - 01 - 2010
 Penanggungjawab

 Ddr. Iri Hartati
 Apoteker
 SIK 3836/B

HEAD OFFICE : Cikarang, Jawa Barat, 01101, Telp. (021) 8222734 (rekening) Fax. (021) 4512154, E-mail: brataco@brataco.com
 BRANCH OFFICE :
 * JAKARTA : Jl. Meruya Utara No. 145, Jakarta 1199, Telp. (021) 8222113, 8111463, 8111464, Fax. (021) 8222110
 * BIKIN : Jl. Diponegoro No. 170, Bina, Bekasi 17140, Telp. (021) 4654990, 46 Fax. (021) 4522019
 * KILANGSIANG : Jl. Dauntek Jaya, (021) 6271120, 6070614 Fax. (021) 6271127
 * TUBAN : Jl. Kertosono No. 110, Bandung Telp. (022) 141377, 7210304, 659 Fax. (022) 7210310
 * BEKASI : Jember No. 19, Telp. (021) 841272, 8415914 Fax. (021) 8414890
 * SENGANGSI : Jl. Sengangsang No. 46, Sengangsang Telp. (0274) 823248, 615360 Fax. (0274) 543190
 * YOGYA : Jl. Tugu No. 80, Yogyakarta Telp. (0271) 532282, 5322051 Fax. (0271) 531044
 * SURABAYA : Jl. Tugu No. 80, Surabaya Telp. (031) 4140272, 4021159 Fax. (031) 4028000
 * MLDN :
 * PONDOKPONDOK :
 * BANGKALAN :
 * PASIRKUNING :
 * TASIKMALAYA :
 * SOLO :
 * PURWOREJO :
 * TEGAL :
 * MALANG :
 * BOJONEgara :
 * DENPASAR :
 * PELEBAUNG :
 * MAKASSAR :
 The International Chemical and Reagents Distributor

Lampiran 89. Sertifikat Analisis propilparaben

		
HASIL PEMERIKSAAN		
Nama Bahan	: Nipazol/ Propyl Paraben	
Batch	: J 0126/10 (PP-26/08-09)	
Ex	: GUJARAT	
E.D	: 09-2013	
Grade	: Farma	
=====		
Jenis pemeriksaan	Persyaratan	Hasil
Pemerian	Serbuk putih, atau hablur kecil, tidak berwarna	sesuai
Kelarutan	Sangat sukar larut dalam air dan air mendidih, mudah larut dalam etanol dan dalam eter	sesuai gumpal
Identifikasi	Didihkan 10 mg zat dengan 10 ml air, dinginkan, tambahkan 3 tetes larutan FeCl ₃ LP; terjadi warna ungu kemerahan	sesuai
Keasaman	Panaskan 750 mg dalam 15 ml air pada suhu 80° C selama 1 menit, dinginkan dan saring; pada 10 ml filtrat, tambahkan 0,2 ml NaOH 0,1 N dan 2 tetes merah metil LP; Larutan berwarna kuning	sesuai
pH 10% b/v	4,5-7,5	6,0
Suhu lebur	Antara 95° - 98° C	98,0°
Susut pengeringan	Tidak lebih dari 0,5%	0,5%
Kadar	99,0% - 101,0%	99,685%
=====		
Kesimpulan : <i>Memenuhi syarat FI IV</i>		
Pemeriksa  <u>Rian Pratama Akpa</u> Analis		Cikarang, 26 - 11- 2009 Penanggung Jawab  <u>Dra. Tri Hartati</u> Apoteker S.I.K. 3836/B
HEAD OFFICE	Jl. Cideng Barat No. 78, Jakarta Pusat 16150, Telp. (021) 8612733 (hunting) Fax. : (021) 9622734, E-mail : brataco@brataco.com	
BRANCH OFFICE	<ul style="list-style-type: none"> • JAKARTA : Jl. Matras Besar V No. 6, Jakarta 11180 Telp. (021) 6200113 (hunting 3 lines) Fax. (021) 6262430 • BANDUNG : Jl. Boulevard Raya Blok TEG No. 8, Jakarta 14240 Telp. (021) 4564092-56 Fax. (021) 4520618 • TANGERANG : Jl. Kalandang No. 8, Bandung Telp. (022) 8077129, 8092808 Fax. (022) 8031874 • SEMARANG : Jl. Terusan Jakarta No. 77C, Bandung Telp. (022) 1101277, 7210306-308 Fax. (022) 7210310 • YOGYA : Jl. Bagan, Kaseman No. 18 Telp. (024) 8415272, 8410900 Fax. (024) 8414980 • SURABAYA : Jl. Ranyinglari No. 44, Yogyakarta Telp. (0274) 543348, 616300 Fax. (0274) 543340 • MEDAN : Jl. Tidar No. 69, Surabaya Telp. (031) 8322887, 8325051 Fax. (031) 8310466 • TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIRIBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDHARJO, DENPASAR, PALEMBANG, MAKASSAR 	
The Netherlands Chemicals and Ingredients Distributor		

Lampiran 90. Sertifikat Analisis Vitamin C



PT. BRATACO
HASIL PEMERIKSAAN



Nama Bahan : Vit C Uncoated
 Batch : J 0163/12 (1111070202)
 Ex : CSPS Weisheng Pharmaceutical
 E.D : 10/2014
 Grade : Farma

Jenis pemeriksaan	Persyaratan FI IV	Hasil
Pemerian	Hablur atau serbuk hablur putih atau agak kuning, oleh cahaya lambat laun menjadi gelap, dalam keadaan kering stabil di udara, dalam larutan cepat teroksidasi	sesuai
Kelarutan	Mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol, tidak larut dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzena	sesuai
Identifikasi	Larutan 1:50 mereduksi tembaga (II) tartar alkali LP secara perlahan – lahan pada suhu kamar, tetapi lebih cepat bila dipanaskan 2 ml larutan 2% tambahkan 4 tetes larutan metilen blue hangatkan hingga suhu 40°C, warna biru akan pudar dan atau hilang	sesuai
pH 1%	2.1-2.6	2.5
Titik lebur	Lebih kurang 190 °C	190.0°C
Kadar	99,0% - 100,5%	99,63%

Kesimpulan : *Memenuhi syarat*

Pemeriksa



Putreni
Analis

Cikarang, 16-02-2012

Penanggung Jawab



HEAD OFFICE : J. Cideng Barat No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (Hunting) Fax. : (021) 3522734, E-mail : btoek@brataco.com

BRANCH OFFICE :

- JAKARTA : J. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6290113 (Hunting 3 lines) Fax. (021) 6292430
- BANDUNG : J. Boulevard Raya Blok TB2 No. 5, Jakarta 14240 Telp. (021) 4584.6882-84 Fax. (021) 453.2615
- SEMARANG : J. Kelenjing No. 8, Bandung Telp. (022) 8077128, 6 030807, 6030808 Fax. (022) 6031879
- YOGYA : J. Puloan Jakarta No. 77G, Bandung Telp. (022) 7101277, 7210308 - 309 Fax (022) 7210310
- SURABAYA : J. Palingsinghuran No. 4, Semarang Telp. (024) 841-2360, 8448277 Fax. (024) 8414880
- MEDAN : J. Blayungjaya No. 45, Yogya Telp. (0274) 543348, 515390 Fax. (0274) 543348
- DENPASAR : J. Tidar No. 89, Surabaya Telp. (031) 5322887, 5325957 Fax. (031) 5310465
- TANGERANG : J. Iskandar Muda No. 408, Medan Telp. (061) 414.8272, 452.3159 Fax. (061) 452.5996
- CIREBON : J. Galol Subroto Barat No. 336C Denpasar Telp. (0361) 7443873, 7801787 Fax. : (0361) 413388

SUB BRANCH OFFICE : TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDOARJO, KEDIRI, KUDUS, PALEMBANG, MAKASSAR, PEKAN BARU, LAMPUNG

The Nationwide Chemical and Ingredient Distributor